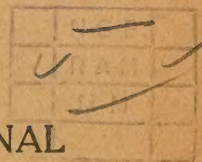
AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 21 — N.º 2

1959





ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL

SACAVÉM

PORTUGAL



FERTILIZATION AND SEED DEVELOPMENT IN SOME CROSSES BETWEEN DIPLOID SPECIES OF THE GENUS *SOLANUM* [1]

BY *NYDIA MALHEIROS-GARDÉ*
(Estação Agronómica Nacional)

INTRODUCTION

IN a previous work (MALHEIROS-GARDÉ, 1959) very interesting results were found. One of them was the behaviour of the self-compatible species *Solanum verrucosum* of the series *Demissa*, that was cross-compatible with all self-incompatible species, but only giving seeds with the species of the series *Tuberosa* and empty berries with all the other species. This cross-sterility was not due to lack of pollen tube growth but to a breakdown after fertilization, possibly due to some genetical factor. This same breakdown occurs after crosses involving *S. jamesii* and *S. pinnatisectum* as female parents.

Seed failure after interspecific crosses is a frequent cause of sterility in flowering plants and has been found in some genera of the family *Solanaceae* as in *Nicotiana* (KOSTOFF, 1930; COOPER & BRINK, 1940; and BRINK & COOPER, 1941). In *Datura*, seed failure has been found by SATINA & BLAKESLEE (1935) in the cross *D. stramonium* × *D. metel*, and by SANSOME, SATINA & BLAKESLEE (1942) in the crosses *D. stramonium* × *D. metel* and *D. stramonium* × *D. ceratocaula* and in another crosses of the same genus by SACHET (1948). In the genus *Solanum* seed abortion following hybridization was found by BEAMISH (1955) when she crossed the hexaploid *S. demissum* with four diploid species, by WANGENHEIM (1957) following crosses between diploid and polyploid species and by LEE & COOPER (1958) following crosses of the diploid *S. pinnatisectum* with the diploid species *S. chacoense*, *S. kesselbrenneri*, *S. goniocalyx* and *S. yabari*.

(1) This work was made at John Innes Horticultural Institution, Bayfordbury, Hertford, Herts. The data presented in this paper were submitted to the University of London as part of a M. Sc. thesis, and was supported by a grant from « The Calouste Gulbenkian Foundation », Lisbon.

MATERIAL AND METHODS

Six diploid species were used in the present study namely:

Solanum	*verrucosum* SCHLECHTD.	(series	*Demissa*)
—	*jamesii* TORR.	(»	*Pinnatisecta*)
—	*pinnatisectum* DUN.	(»	»)
—	*ehrenbergii* (BITT.) RYDB.	(»	*Cardiophylla*)
—	*simplicifolium* BITT.	(»	*Tuberosa*)
—	*soukupii* HAWKES	(»	»)

They have been used in the following crosses:

Solanum verrucosum × *S. soukupii*
— *verrucosum* × *S. jamesii*
— *verrucosum* × *S. pinnatisectum*
— *verrucosum* × *S. ehrenbergii*
— *pinnatisectum* × *S. simplicifolium*
— *pinnatisectum* × *S. soukupii*
— *jamesii* × *S. simplicifolium*
— *jamesii* × *S. soukupii*

The crosses were made in the greenhouse. The emmasculations were made one day before the open flowering stage and the pollinations on the following day. Collections of the material were made at different intervals after the pollinations. The ovaries were fixed for 24 hours in RANDOLPH's fixative and, afterwards washed and dehydrated in an ethyl alcohol series of 30, 50, 70, 80, 95 and 100 % and transferred by steps in alcohol-chloroform mixtures of 25 %, 50 % and 75 % each, followed by pure chloroform to which 52° C. wax was added, and placed inside an oven at the temperature of 60° C. The ovaries were sectioned transversally at 16-18 μ stained by the Crystal Violet method and mounted in neutral balsam.

RESULTS

The structure of the female gametophyte in *Solanum verrucosum, S. jamesii* and *S. pinnatisectum* is quite similar as the described already for *S. melongena* by BHADURI (1932), for *S. tuberosum* by REES-LEONARD (1935) and CLARKE (1940) for *S. demissum*

(BEAMISH, 1955; and WALKER, 1955) and for *S. pinnatisectum* by LEE & COOPER (1958).

The megaspore mother cell undergoes the usual meiotic division to form a linear tetrad of four megaspores. The calazal megaspore of the tetrad is the functioning megaspore and gives rise to the embryo sac, while the remaining three, degenerate and disappear (*Polygonum* type). After that, the megaspore enlarges, becomes vacuolate, the nucleus divides and the daughter nuclei move towards opposite poles. The next division gives rise to four nuclei and is followed by another division giving rise to eight nuclei, four in the micropylar end and another four at the chalazal region. The four cells at the micropylar end give rise to two elongate cells, the synergids, to the egg and to one polar nucleus. The four cells at the chalazal end give rise to three antipodal cells and to one polar nucleus, that later fuses with the other polar nucleus and the three antipodal cells desintegrate. Finally the female gametophyte consists of two synergids, one egg and one secondary nucleus, and the embryo sac is ready for fertilization.

Solanum verrucosum × *S. soukupii* — Fertilization occurs in most ovules 24-48 hours after pollination. The pollen tube passes through the micropyle and enters the embryo sac between the egg and the synergids to discharge its contents, and one male gamete fuses with the egg (syngamy) and the other with the secondary nucleus (triple fusion). Shortly after fertilization the endosperm nucleus divides and a two-celled endosperm is in general present, at 72 hours after pollination. The endosperm cells continues to divide quickly and after five days, when the zygote begins to divide the endosperm consists of 40 or 50 cells approximately. Fertilization stimulates not only the embryo and the endosperm but also the surrounding maternal tissue and the whole seed increases in size due to active division of the endothelium, funiculus and the outher layers of the integument. The inner integumentary cells immediately adjacent to the endothelium are in a stage of desintegration, and form a broad ring of collapsed cells. The cells of the endothelium divide along the radial axis, as the endosperm grows. The developing endosperm is in close contact with the maternal tissue at the micropylar, and at the calazal end. A group of cells, at this time, in the calazal end forms a

pocket between the endosperm and the vascular bundle in the funiculus. These densely cytoplasmatic cells appear to be active in the absorption of nutrients from the vascular system through the endothelium to the endosperm. Frequently the endosperm cells in this regions are elongated and with very dense cytoplasm, too.

Five days after pollination the zygote divides transversely and form a two-celled proembryo (Plate I, 1), which divides again transversely to give rise to a four-celled proembryo. The two basal cells divide more two or three times (Plate I, 2) to give rise to the suspensor, and the apical cells suffer transverse and vertical divisions and form the true embryo. Development proceeds and 13 days after pollination a club-shaped embryo is present (Plate I, 3). The embryo begins to differentiate, certain pheripheral cells in the opposite poles become meristematic and begin the formation of the cotyledons. After 19 days a heart-shaped embryo is present (Plate I, 4). As the cotyledons elongate, the adjacent endosperm cells desintegrate and all the seed is on its way to maturity.

Solanum verrucosum × *S. jamesii* — Aproximately 90 per cent of pollinations produced berries, but no seeds were formed in any case.

Fertilization occurs approximately 48 hours after pollination and after 72 hours the first or the second division of the endosperm is present. Such stage is shown in the Plate II (1 and 2). The male nucleus is near the egg nucleus, the synergids begin to desintegrate and the remains of the pollen with the two X-bodies lie near the egg and the synergids.

The development of the endosperm is slower than in a fertile cross and, about 5-6 days after pollination, while the endosperm has been dividing and the whole integument of the seed has enlarged, the endothelium becomes actively meristematic and divides rapidly in all directions. The endosperm nuclei at the time of the division of the zygote becomes pycnotic, desintegrates and the several integument layers immediately adjacent to the endothelium break-down and die. Highly vacuolated cells of the endothelium invade and fill completely the cavity of the embryo sac, and sometimes a two or four celled embryo is formed, that dies afterwards (Plate III, 1). Nevertheless, there is a great variability in the development of the endosperm and embryo in the same cross and it is different in the same ovary from ovule to ovule.

Sometimes, 13 days after pollination a round embryo with suspensor is present, surrounded by a many celled endosperm but the peripheral layer of the endosperm and the endothelial cells that are immediately adjacent, are in a stage of breakdown. They are strongly stained and form a ring of collapsed cells (Plate III, 2). Afterwards, the endosperm is decomposed and at 23 days after pollination a collapsing embryo can be seen in an empty embryo sac (Plate III, 3).

Solanum verrucosum × *S. pinnatisectum* — Aproximately 58 % of pollinations produced berries, but in no case were seeds formed.

The course of seed failure following this mating was very similar to that following *S. verrucosum* × *S. jamesii*. The two are like one another from the beginning, the endosperm has a slow development, the endothelial cells begin to increase very soon, develop rapidly and the embryo-sac is completely filled by the endothelium, in general after 12-13 days after pollination. The embryo may become more or less developed, but the development always ceases, before showing any cotyledonar differentiation.

Solanum verrucosum × *S. ehrenbergii* — The fruit set is abundant following this cross, but seed failure occurs in every berry. Compared with the two previous crosses, the progress of seed failure is not so accelerated, and shows more regularity within the same ovary. Three days after pollination, the fertilization is accomplished and the endosperm has already undergone one or two divisions, while the fertilized egg has not divided yet. Eight days after pollination the endosperm is well developed and a four-celled embryo is present.

However, this good development is soon followed by the abnormal division of the endothelium, that soon fills completely the whole embryo-sac with a dense tissue. Sixteen days after pollination many-celled embryos often desintegrate, but others remain unchanged, surrounded by endothelial cells.

Solanum jamesii × *S. simplicifolium* — Abundant fruits were produced from this cross, but only few viable seeds were obtained, even in the very good conditions of temperature and light that occurred in the spring of the year of 1957.

Fertilization takes place about 48 hours of pollination and a two-celled endosperm is present at 72 hours interval (Plate IV, 1). The majority of the zygotes are in division between 6 and 7 days after pollination, and a two-celled proembryo is present at 8-days interval (Plate IV, 2), surrounded by a many-celled endosperm. The endothelial cells become active in a majority of the developing seeds, at this time. The endosperm cells begin to break apart, as the endothelium grows and, in most of the seeds the cells of the endosperm shrink and collapse and the embryo surrouded by the endothelium is seen after 13 days of pollination (Plate IV, 3). Some days after the collapse of the endosperm the endothelium collapses too, and in some seeds a many-celled embryo was found 20 days after pollination in emptied embryo-sacs (Plate IV, 4). Many of the hybrids seeds cease growth at this time, but others continue the development for varying periods of time. The whole berry grows, the plancental tissue divides intensively and fills completely the space where the seeds were implanted.

Solanum jamesii × *S. soukupii* — The course of the seeds failure of this mating was quite similar to the precceding cross and no special description is necessary.

Solanum pinnatissectum × *S. simplicifolium* and *Solanum pinnatisectum* × *S. soukupii* — The great majority of pollinations produced berries, but only few seeds were obtained from these crosses under the good conditions of the year 1957.

In crosses involving *S. pinnatisectum* as female parent, fertilization takes place about 48 hours after pollination. The endosperm begins to divide soon after fertilization and at 72 hours, a two or four-celled endosperm is present. The zygote divides in most of the embryo-sacs 6-7 days after pollination. The rate of the division in the endosperm at this time, is very slow, and is very rapid in the endothelium. The cells of the endosperm become pycnotic shrink and collapse and the endothelium fills completely the cavity of the embryo-sac, and sometimes a two-celled embryo is found one month after pollination surrounded by the endothelium. However, the development of the endosperm and the embryo continues in some seeds for varying periods of time.

DISCUSSION

The most important feature of this study is the fact that fertilization seems to occur in the majority of the ovules, in the crosses studied. Another important fact is the great variability of the development of the hybrid seeds. In different berries or even in the same berry, the different seeds have different rates of growth and desintegration.

The polen tube growth in the crosses involving *S. verrucosum* as female is quite the same in the fertile and in the sterile ones, but when *S. pinnatisectum* or *S. jamesii* are the females, the first abnormality found is the slow rate of the pollen tube growth.

The mainly irregularity found in all interspecific crosses studies, was the slower rate of the endosperm growth and the failure of its cells to enlarge and differentiate in a normal manner. In a normal developing endosperm, as the number of the cells increases, in the centre they become large and vacuolated, while the peripheral cells become densely cytoplasmatic and lie adjacent to the endothelium. The developing endosperm maintains contact with the maternal tissue at the chalazal and at the micropylar ends. Such differentiation was not seen in the abnormal endosperm. Sooner or later they collapse and desintegrate. Another abnormality is the hyperplasia of the endothelium that sometimes begin shortly after fertilization or it may begin later, 7-8 days after fertilization.

The course of the embryo development in the first stages is very similar in the fertile and in the sterile crosses. The rate of the development, however, is slower in the sterile ones. And in none of the crosses studied did the hybrid embryo reached the cotyledonary stage.

The two phenomena of breakdown of the endosperm and hyperplasia of the endothelium are common in other interspecific crosses in the genus *Solanum*, and in matings within other genera of the family *Solanaceae*.

Kostoff (1930) made reference to the hyperplasia of the endothelium as a regular feature in the seed failure in interspecific crosses in *Nicotiana*, and he atributed this overgrowth of the endothelium to a stimulus given from a substance introduced by the pollen tube. He considered the failure of the seed to be due to a reaction between the genotypically diverse endosperm and the maternal tissue.

Cooper & Brink (1940) and Brink & Cooper (1941) found slow growth of the endosperm, and hyperplasia of the endothelium and the failure of the integumentary celles near the chalazal pocket to differentiate into conducting tissues, following matings of *Nicotiana rustica* × *N. glutinosa*. These observations are explained as the results of a genetic unbalance in the endosperm, that results in a slow growth, and consequent overgrowth of the endothelium. The endosperm become insolated from its source of food suply, and both endosperm and embryo die from starvation.

Cooper & Brink (1945) found a slower growth than the normal and an anormal growth of the endothelial cells, after reciprocal matings between diploid and tetraploid lines of *Licopersicon pimpinellifolium* and after interspecific crosses between *L. pimpinellifolium* and *L. peruvianum*, 2n × 2n and 4n × 2n.

Beamish (1955) and Walker (1955) reported the same abnormalities in the endosperm and endothelium following crosses between the hexaploid *S. demissum* and some diploid species.

Wangenheim (1957) found seed failure following crosses between diploid and polyploid species of *Solanum*. He proposes that the cause of the breakdown of the endosperm, might be an alteration of tissue-differentation which is brought about by a quantitive difference between the cytoplasm and the genome involved in the crosses.

Lee & Cooper (1958) described the same facts found by the previous authors following mating of *S. pinnatisectum* with *S. chacoense*, *S. goniocalyx*, *S. kesselbrenneri* and *S. yabari*, and they considered that the collapse of the hybrid seed is due to the starvation of the embryo as result of early desintegration of the endosperm.

Studies of the seed failure have been described by Satina & Blakeslee (1935), following the cross *Datura stramonium* × *D. metel;* by Sansome, Satina & Blakeslee (1942) following the crosses *D. stramonium* × *D. metel* and *D. stramonium* × *D. ceratocaula* and by Sachet (1948) in six other crosses. In the genus *Datura* the course of the seed failure is a little different from that of *Solanum*.

Satina, Rappaport & Blakeslee (1950) found that hybridization in some species of *Datura* is prevented by the formation of ovular tumors, formed by tissue developed from the innermost layer of the integument the endothelium. The growth and the development

of the ovular tumors stop after all cells of the endosperm and of the embryo are absorbed.

A normal and developed endosperm, is very important during the seed development, since the embryo depends on it for its nutrition and the endosperm depends on the adjacent maternal tissue. The failure of the endosperm to assume its proper position in the seed is the first factor for seed failure in the genus *Solanum* followed by the hyperplasia of the endothelium and failure of the some integumentary cells to differentiate into conducting tissue. The reason and nature of these abnormalities are unknown at the present.

HAINES (1954) has cultured in vitro, with success immature embryos of *S. tuberosum*, after excision and transference to culture media at about 17 day after pollination. Embryos can be cultured 14 days after pollination transfering the whole ovule or the excised embryo to the proper culture medium. Since in most of our cases the embryo can reach a many-celled stage, it is possible, as suggested by LEE & COOPER (1958), to prevent its death and obtain hybrids by culture in an adequate culture medium, and overcome this barrier of isolation.

SUMMARY

Studies of fertilization and seed development were made following some interspecific crosses in the genus *Solanum*.

The normal course of seed development was studied in the cross *Solanum verrucosum* × *S. soukupii*.

Seed failure was found and studied in the following crosses:

Solanum verrucosum × *S. jamesii*
— *verrucosum* × *S. pinnatisectum*
— *verrucosum* × *S. ehrenbergii*
— *jamesii* × *S. soukupii*
— *jamesii* × *S. simplicifolium*
— *pinnatisectum* × *S. simplicifolium*
— *pinnatisectum* × *S. soukupii*

Double fertilization takes place 24-48 hours after pollination, and the division of the zygote about 5-6 days after pollination. In the cross *Solanum verrucosum* × *S. soukupii*, the endosperm

and the embryo grow normally and reach maturity. In the other crosses the endosperm divides slowly, fails to enlarge and differentiate, is non-functional and ultimaly collapses. The endothelial cells proliferate and completely fill the embryo-sac, and afterwards break apart. The embryo can reach a many-celled stage, but sooner or later dies of starvation.

SUMÁRIO

Estudou-se a fecundação e o desenvolvimento da semente em alguns híbridos interespecíficos do género *Solanum*.

O curso normal do crescimento da semente foi estudado no híbrido *Solanum verrucosum* × *S. soukupii*.

O desenvolvimento anormal da semente foi encontrado e estudado nos seguintes cruzamentos:

Solanum verrucosum × *S. jamesii*
— *verrucosum* × *S. pinnatisectum*
— *verrucosum* × *S. ehrenbergii*
— *jamesii* × *S. soukupii*
— *jamesii* × *S. simplicifolium*
— *pinnatisectum* × *S. simplicifolium*
— *pinnatisectum* × *S. soukupii*

A dupla fecundação verifica-se 24 a 48 horas depois da polinização e a divisão do zigoto cerca de 5 a 6 dias depois da polinização, no cruzamento *Solanum verrucosum* × *S. soukupii*. O endosperma e o embrião crescem normalmente e atingem a maturação. Nos outros cruzamentos, a dupla fecundação e a divisão do zigoto são um pouco retardadas, o endosperma divide-se devagar, não se desenvolve suficientemente nem se diferencia, e finalmente morre. As células do endotélium dividem-se ràpidamente e enchem completamente o saco embrionário morrendo, também, algum tempo depois. O embrião pode atingir um estado mais ou menos adiantado mas acaba cedo ou tarde por morrer, por falta de alimento.

REFERENCES

BEAMISH, KATHERINE I.

1955 Seed failure following hybridization between the hexaploid *Solanum demissum* and four diploid *Solanum* species. *Amer. J. Bot.* **42**: 297-304.

BHADURI, P. N.

1932 The development of ovule and embryo sac in *Solanum melongena*. *J. Indian bot. Soc.* **11**: 202-224 (in LEE & COOPER, 1958).

BRINK, R. A., & COOPER, D. C.

1941 Incomplete seed failure as a result of somatoplastic sterility. *Genetics*. **26**: 487-505.

CLARKE, A. E.

1940 Fertilization and early embryo development in the potato. *Amer. Potato J.* **17**: 20-25.

COOPER, D. C. & BRINK, R. A.

1940 Somatoplastic sterility as a cause of seed failure after interspecific hybridization. *Genetics* **25**: 593-617.

1945 Seed collapse following matings between diploid and tetraploid race of *Lycopersicon pimpinellifolium*. *Genetics* **30**: 376-401.

HAYNES, G. W.

1954 Potato embryo culture. *Amer. Potato J.* **31**: 282-288 (in LEE & COOPER, 1958).

KOSTOFF, D.

1930 Ontogeny, genetics and cytology of *Nicotiana* hybrids. *Genetica* **12**: 33-139.

LEE, J. H. & COOPER, D. C.

1958 Seed development following hybridization between diploid *Solanum* species from Mexico, Central and South America. *Amer. J. Bot.* **45**: 104-110.

MALHEIROS-GARDÉ, NYDIA

1959 Mechanisms of species isolation in tuberous *Solanum*. *Agron. Lusit.* **21**: 19-42.

REES-LEONARD, O. L.

1935 Macrosporogenesis and development of the macrogametophyte of *Solanum tuberosum*. *Bot. Gaz.* **96**: 734-750.

SACHET, MARIE

1948 Fertilization in six incompatible species of *Datura*. *Amer. J. Bot.* **35**: 302-309.

SANSOME, E. R., SATINA, S. & BLAKESLEE, A. F.

1942 Desintegration of ovules in tetraploid-diploid and in incompatible crosses of *Datura*. *Bull. Torrey bot. C.* **69**: 405-420.

SATINA, SOPHIE & BLAKESLEE, A. F.

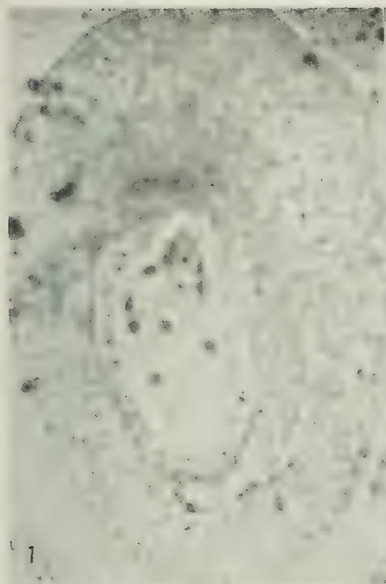
1935 Fertilization in the incompatible cross *Datura stramonium* × *D. metel*. *Bull. Torrey bot. C.* **62**: 301-312.

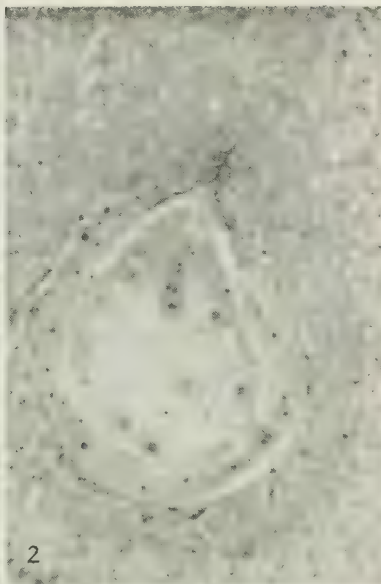
————, RAPPAPORT, J. & BLAKESLEE, A. F.

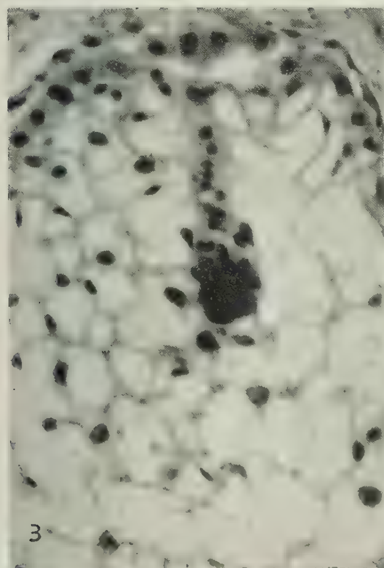
1950 Ovular tumors connected with incompatible crosses in *Datura*. *Amer. J. Bot.* **37**: 576-586.

WALKER, R. J.
1955 Cytological and embryological studies in *Solanum* section *Tuberarium*. *Bull. Torrey bot. C.* **82**: 87-101.

WANGENHEIM, K. H. v.
1957 Untersuchungen uber den Zuzammenhang zwischen Chromosomenzahle und Kreuzbarkeit bei *Solanum*-Arten. *Z. indukt. Abstamm.-u. Vererb-Lehre* **88**: 21-37 (in LEE & COOPER, 1958).

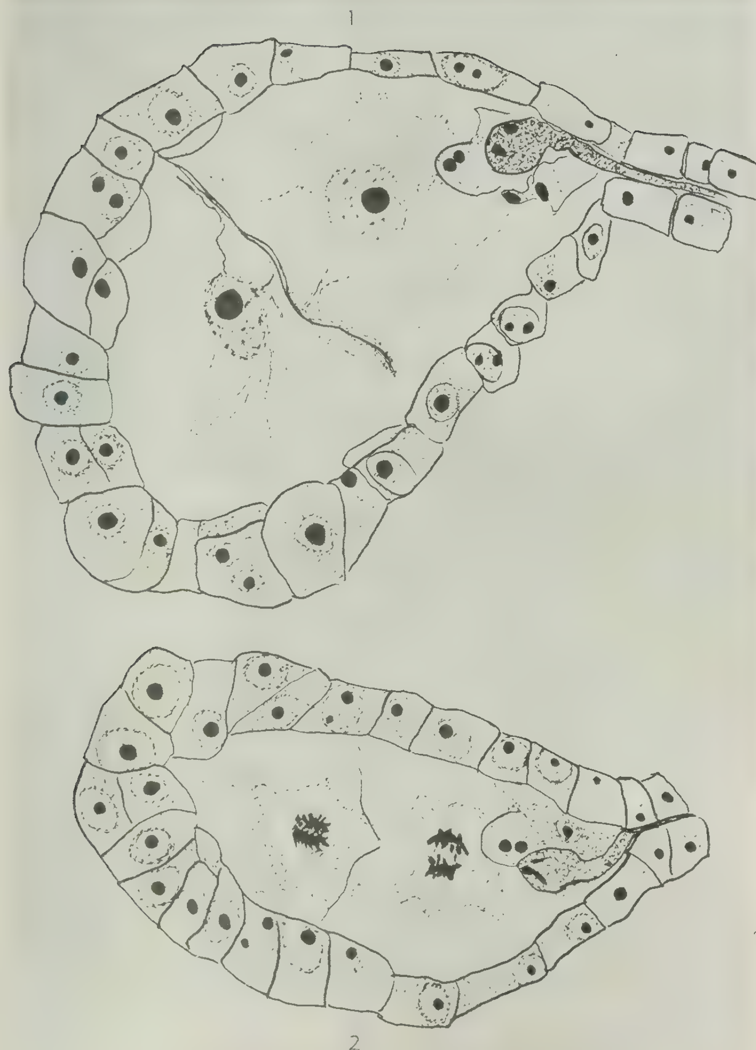




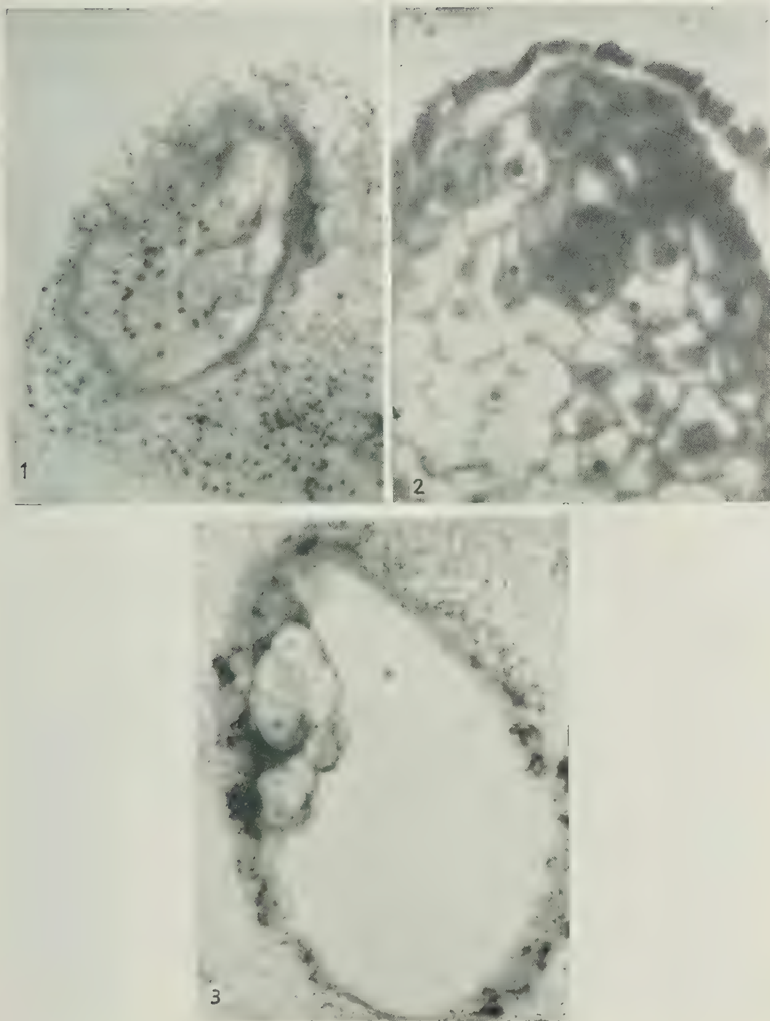




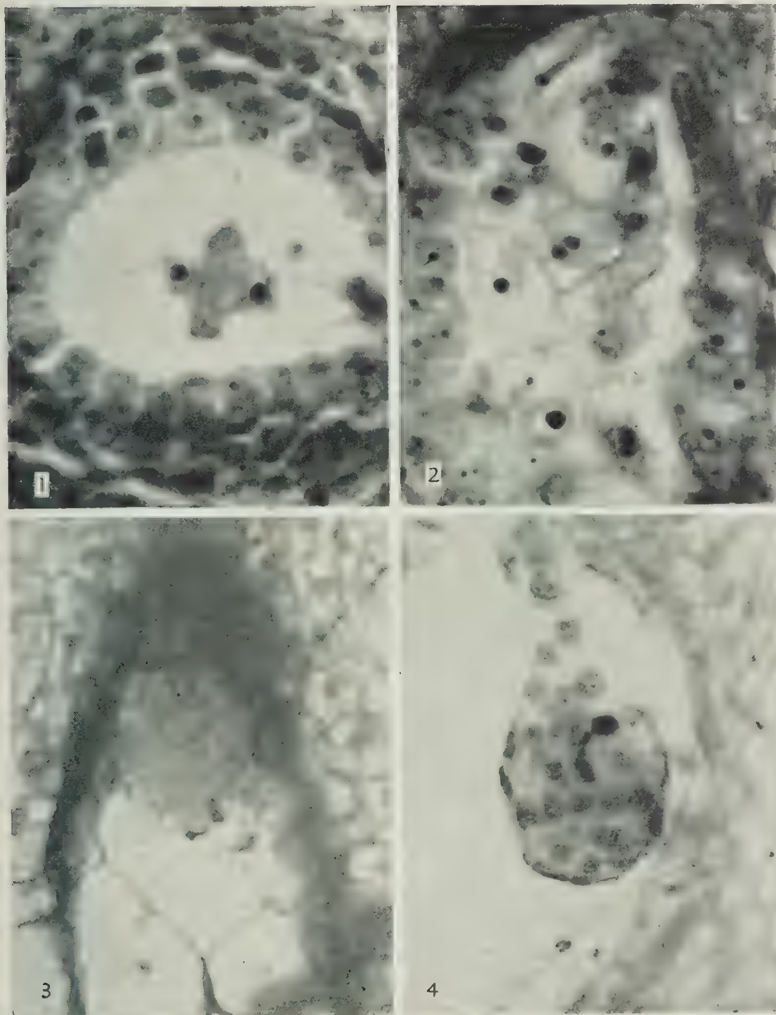
1. Proembryo with two cells (five days after pollination).
2. Proembryo with eight cells (six days after pollination).
3. Club-shaped embryo (13 days after pollination).
4. Heart-shaped embryo (19 days after pollination).



1. First division of the endosperm. The male nucleus is near the egg, the synergids begin to desintegrate and the remains of the pollen tube with the two X-bodies lies near the egg.
2. Second division of the endosperm. The male nucleus is also near the egg, one synergid is already desintegrated and the remains of the pollen tube with the two X-bodies are also present.



1. A four-celled proembryo surrounded by the endothelium that have been invaded completely the embryo-sac.
2. A round embryo with suspensor, surrounded by a many-celled endosperm.
3. A collapsing embryo in an empty embryo-sac.



1. A two-celled endosperm 72 hours after pollination.
2. A two-celled proembryo 8 days after pollination.
3. A collapsing embryo surrounded by the endothelium.
4. A many-celled embryo in an empty embryo-sac.

UM MOSAICO DA ALFACE

POR *AMARÍLIS ALBERTY DE VARENNES E MENDONÇA*
(Estação Agronómica Nacional)

INTRODUÇÃO

NOS arredores de Lisboa, e particularmente na região hortícola de Sacavém e Loures, observámos com frequência plantas da família das Compostas, quer cultivadas, quer espontâneas, atacadas de viroses.

A ausência, no nosso País, de qualquer trabalho sobre doenças da alface (*Lactuca sativa* L.) causadas por vírus, já descritas em outros países como originando prejuízos apreciáveis nessa cultura, levou-nos a realizar o presente estudo.

Nesta nossa contribuição abordaram-se apenas os aspectos da sintomatologia, transmissão mecânica, escala de hospedeiros e propriedades dos vírus.

A distribuição da doença pelo País, e consequente importância económica, não puderam ser estudadas pelas dificuldades materiais de fazer o reconhecimento das várias regiões hortícolas ou de obter delas material doente.

A transmissão, pelos insectos, dos vírus da alface foi estudada ao mesmo tempo por DIAS (1951), pelo que este assunto não é tratado no nosso trabalho.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A primeira referência a um vírus da alface de que temos conhecimento data de 1921 e deve-se a JAGGER que descreve a doença como um mosaico transmissível pelo afídeo *Myzus persicae* SULZ..

Dois anos mais tarde, NEWHALL (1923) publicou um trabalho sobre o que parece ser a mesma doença, acrescentando que ela é transmissível pela semente.

Em 1926, KUNKEL, estudando os hospedeiros do «aster yellows», observa que a alface é susceptível a este vírus e indica a *Cicadula sexnotata* como seu vector.

No ano seguinte (1927) OGILVIE encontrou nas Bermudas alfaces naturalmente infectadas pelo «aster yellows».

BRANDENBURG, em 1928, publica o trabalho mais completo até à data, sobre vírus das alfaces. Nele se descrevem duas doenças aparentemente distintas: uma, que produz nas folhas mais novas o embranquecimento das nervuras que se destacam sobre o verde normal da folha, parecendo muito maiores; e outra, designada por «mosaico pontuado», que produz pontuações cloróticas que se podem tornar necróticas. Tanto uma como outra são transmissíveis pela semente.

Em 1929, SEVERIN estuda o «amarelecimento» («yellows») de várias plantas e entre elas a alface.

Em 1934 aparece o trabalho de TOMPKINS & GARDNER sobre o vírus «spotted wilt» do tomateiro no qual, pela primeira vez, se faz menção dos prejuízos causados por tal doença na cultura da alface. São descritos os sintomas neste hospedeiro, período de incubação e as experiências de inoculação cruzada entre a alface e o tomateiro.

A este estudo seguem-se os trabalhos de KENNETH SMITH (1935) e de MAGEE (1936) sobre o mesmo vírus em que se cita o seu efeito sobre as alfaces.

Em 1934, JAGGER & CHANDLER publicam um trabalho sobre uma doença da alface de etiologia desconhecida, a que os autores chamam «big vein».

A impossibilidade de reproduzir experimentalmente esta doença, que JAGGER & CHANDLER supõem ser transmitida pelo solo, fez, possivelmente, com que KENNETH SMITH (1937) no seu livro *Text Book of Plant Virus Diseases* se não refira a ela e limite a lista dos vírus da alface aos seguintes: *Lactuca virus 1* (mosaico da alface, de JAGGER), *Callistephus virus 1* («aster yellows»), *Lycopersicum virus 3* («spotted wilt», do tomateiro). Cita ainda a *Lactuca Serriola («Scariola»)* como hospedeiro do *Delphinium virus 1.*

O primeiro trabalho em que se faz já um estudo metódico do mosaico da alface aparece em 1939 e deve-se a AINSWORTH & OGILVIE. Nele se descrevem, pormenorizadamente, a sua sintomatologia, métodos de transmisão, períodos de incubação, influência das estações do ano e escala de hospedeiros. Apresentam ainda uma

lista de plantas inoculadas e que não se mostraram susceptíveis e, pela primeira vez na família das Compostas, é feito o estudo das propriedades do vírus.

Em 1940, JAGGER descreve uma nova doença da alface de sintomatologia totalmente diferente da do mosaico e a que chama « brown blight ». Como no caso do « big vein » a etiologia é desconhecida, não se comprovando pois que se trate de um vírus.

No mesmo ano, LINN (1940) publica um artigo em que descreve os efeitos do vírus « aster yellows » na alface e na chicória.

Em 1942, THOMPSON & DOOLITTLE voltam a referir-se ao « big vein » de JAGGER & CHANDLER, mas não provam a sua etiologia; em 1944 publicam novos resultados confirmando a transmissão da doença pelo solo mas não por qualquer dos outros processos usados em virulogia.

KASSANIS, também em 1944, descreve uma virose da alface e do *Taraxacum officinale* que considera distinta do mosaico e mais severa.

Em 1945 aparecem os trabalhos de FRAZIER & SEVERIN, de SEVERIN & FREITAG, e de WATSON, todos sobre o « aster yellows ».

No mesmo ano KRAMER, ORLANDO & SILBERSCHMIDT estudam uma virose da alface causando grandes prejuízos em São Paulo (Brasil) e que identificam com o mosaico.

Um novo trabalho, da autoria de PRYOR e sobre o « big vein » da alface, aparece em 1946 comprovando a interferência do solo no aparecimento dos sintomas desta doença.

Em 1948 VASUDEVA, RAYCHAUDHURI & PATHANIAN descrevem um mosaico da alface ocorrendo em Nova Delhi, o qual estes autores consideram distinto de todos os outros mosaicos descritos para aquela planta. De facto, embora os sintomas sejam semelhantes, o período de incubação é muito curto (6 a 8 dias) e a resistência do vírus ao calor, à diluição e à conservação « in vitro » é muito superior à de qualquer dos mosaicos estudados.

RICH, em 1950, refere-se ao « big vein » e à possibilidade do seu combate pelo tratamento do solo.

No trabalho de GROGAN & BARDIN (1950) é descrita a transmissão do mosaico da alface pela semente.

No ano seguinte GROGAN, WELCH & BARDIN indicam o uso de semente isenta de vírus como meio de combate àquela doença.

Ainda em 1951, THOMPSON refere a sintomatologia do « aster

yellows» na alface e o seu combate pela destruição dos insectos vectores.

No mesmo ano Broadbent (1951) verifica de novo a transmissão do mosaico da alface pela semente tendo observado que na variedade 'Cheshunt Early Giant' não se dá este tipo de transmissão. Indica como vectores o *Myzus persicae* e o *Macrosiphum euphorbiae*.

Em 1952, Wilkinson & Hirsch publicam um trabalho em que, pela primeira vez, são indicados a *Gomphrena globosa* e o *Chenopodium urbicum* como plantas susceptíveis ao mosaico da alface dando como sintomas lesões locais.

Grogan, Welch & Bardin, em 1952, descrevem minuciosamente um método para obtensão de sementes de alface isentas de vírus.

No mesmo ano, Fry (1952) estuda o mosaico da alface na Nova Zelândia descrevendo os sintomas, modos de transmissão e propriedades do vírus.

Ainda em 1952, Bremer faz um apanhado de grande número de trabalhos sobre o mosaico da alface, referindo a sintomatologia nos diferentes hospedeiros, a distribuição geográfica da doença, a sua transmissão pela semente, os insectos vectores e os meios de combate.

Em 1954, Ullrich publica na Alemanha um trabalho sobre o mosaico da alface, indicando também como plantas susceptíveis a *Gomphrena globosa* e o *Chenopodium urbicum*. Verifica de igual modo a transmissão do vírus pela semente e salienta a importância deste facto na dispersão da doença.

Stubbs (1954) descreve os sintomas do mosaico da alface, a sua transmissão pela semente e indica como hospedeiros o *Senecio vulgaris*, o *Sonchus asper* e a *Lactuca Serriola*. Aconselha o uso de semente sã como meio de combate à doença.

Neste ano ainda, Grogan, Bardin & Schnathorst observam pela primeira vez alfaces naturalmente infectadas com um vírus que os autores crêem ser o «tobacco-ring-spot». Os sintomas descritos em nada se assemelham aos das outras viroses da alface.

Yarwood (1954) crê, também, haver relação entre o «big vein» e o «tobacco-necrosis».

Em 1955, Sylvester verifica mais uma vez a transmissão do mosaico da alface pela semente e a sua dispersão no campo pelo *Mysus persicae* Sulzer, & Marini publica um trabalho em que é indicado, do mesmo modo, aquele tipo de transmissão.

Aycock & Winstead, ainda em 1955, indicam como meio de combate ao mosaico o uso de semente isenta de vírus, e Couch observa a diferença de comportamento, no que diz respeito a transmissão pela semente, em linhas de determinadas variedades de alface, o que levou o autor a pensar na possibilidade de obter linhas em que tal transmissão não se desse. Na variedade 'Cheshunt Early Giant' não observou este tipo de transmissão.

Em 1956, Zink, Grogan & Welch num estudo minucioso, confirmam e salientam a importância da transmissão pela semente do mosaico da alface na dispersão da doença no campo.

Herold, também em 1956, aconselha o uso de semente sã como meio de combate ao mosaico da alface.

No mesmo ano, Ullrich foca mais uma vez a importância da transmissão do vírus pela semente para a dispersão da doença no campo. Verifica também que na variedade 'Cheshunt Early Giant' não se dá aquele tipo de transmissão.

Por fim, em 1957, Kenneth Smith na sua segunda edição do livro *Text book of plant virus diseases* indica para o *Lactuca virus 1* (mosaico da alface) os valores da sua resistência ao calor, à diluição e a sua longevidade «in vitro».

MATERIAL E MÉTODOS

Fizeram-se tentativas de isolamento de vírus de 34 amostras colhidas em várias localidades durante o Inverno, Primavera e Outono de 1946.

Dessas amostras apenas 11 (descritas sucintamente no Quadro I) deram inoculações positivas, estabelecendo-se assim 11 *culturas* de vírus que a seguir foram diferenciadas e estudadas na estufa durante algum tempo. Finalmente, por se terem perdido algumas dessas estirpes, levaram-se a efeito os ensaios definitivos apenas com quatro estirpes designadas por V_1, V_{11}, V_{18} e V_{26} provenientes respectivamente das amostras 1, 11, 18 e 26.

Os hospedeiros usados para a manutenção e diferenciação das quatro estirpes estão indicados nos Quadros III e IV.

Escolheram-se, além das variedades de alface mais cultivadas no País, espécies de *Lactuca* espontâneas, várias espécies de Compostas e ainda plantas usualmente empregadas como diferenciadoras de vírus (*Nicotiana glutinosa*) ou que têm sido indicadas

como hospedeiros do vírus da alface (*Solanum Lycopersicum*, *Pisum sativum*, etc.).

Todas as inoculações foram feitas mecânicamente, experimentando-se várias técnicas adiante descritas.

Uma vez estabelecida a *cultura* esta era mantida de preferência em alface 'Londrina'.

Em cada série de inoculações usavam-se, pelo menos seis plantas de cada espécie ou forma, sujeitando-se todas elas a ino-

QUADRO I

N.º de ordem	Hospedeiro	Local e data da colheita	Sintomatologia
1	*Lactuca Serriola* L. var. *integrifolia* BISCHOFF	Sacavém, 7/1/46	Enrugamento das folhas novas
2	*Lactuca sativa* L.	Sacavém, 13/1/46	Enrugamento e clorose das folhas
11	*Lactuca sativa* L.	Sacavém, 13/1/46	Pontuações necróticas ao longo das nervuras
13	*Lactuca sativa* L.	Sacavém, 13/1/46	Enrugamento e clorose das folhas
15	*Lactuca sativa* L.	Sacavém, 13/1/46	Pontuações necróticas com clorose e áreas necrosadas
18	*Lactuca sativa* L.	Sacavém, 18/1/46	Mosaico nítido nas folhas
26	*Inula viscosa* (L.) AIT.	Sacavém, 11/3/46	Mosaico nítido nas folhas
27	*Lactuca Serriola* L.	Sacavém, 11/3/46	Mosaico nas folhas
30	Composta não identificada	Parede, 15/3/46	Enrugamento das folhas
33	Composta não identificada	? , 10/10/46	Enrugamento das folhas
34	Composta não identificada	? , 10/10/46	Enrugamento das folhas

culações retrógradas — mesmo quando não mostravam sintomas — antes de se concluir se eram imunes ou simplesmente vectores sem sintomas.

Por este processo podia ainda averiguar-se se algum dos hospedeiros funcionava de planta filtro em relação a qualquer possível complexo de vírus.

OBSERVAÇÕES E RESULTADOS

Ensaio dos métodos de inoculação

Neste ensaio escolheu-se para hospedeiro a inocular a *Lactuca Serriola* var. *integrifolia* usando-se seis plantas para cada estirpe de vírus e para cada um dos três seguintes métodos de inoculação:

1) inoculação por punção no colo da planta;
2) inoculação por escarificação profunda das folhas;
3) inoculação por escarificação superficial das folhas com abrasivo.

No primeiro caso introduzia-se profundamente o extracto infeccioso no colo das plantas por meio de pipetas de Pasteur, na ideia de que esta técnica pudesse levar à diminuição do período de incubação ou a maior percentagem de inoculações positivas.

No segundo caso também se usaram pipetas de Pasteur com o extracto de plantas doentes mas escarificavam-se as folhas procurando distribuir o inóculo em feridas tão profundas quanto possível.

No terceiro caso usou-se a espátula de vidro despulido, molhada no extracto das plantas doentes, a qual se passava suavemente sobre a superfície das folhas prèviamente polvilhadas com abrasivo (carborundum e aloxite).

Só a inoculação com abrasivo deu resultados positivos e essa mesma em percentagens que nunca alcançaram os 100 %.

Tais observações, que confirmaram as de outros investigadores, levaram à suspeita de que fenómenos de oxiredução ocorridos durante a trituração dos tecidos pudessem provocar uma rápida perda da infecciosidade do suco inoculante.

Para verificar se se podia obviar a este inconveniente fez-se uma série de ensaios em que se juntou às folhas doentes, antes de se esmagarem no almofariz, uma solução de sulfito de sódio a

0,5 % (Lojkin & Vinson, 1931 ; Ainsworth, 1936 ; Ainsworth & Ogilvie, 1939) usando-se carborundum em todas as modalidades.

As inoculações foram feitas em alface 'Londrina', usando também várias modalidades de aplicação do inóculo, como se vê no Quadro II.

O denominador das fracções representa o número de plantas inoculadas e o numerador o número de inoculações positivas.

Como resultado destes ensaios podemos dizer que nenhum método nos pareceu mais aconselhável do que a vulgar escarificação com carborundum, método que usámos exclusivamente como processo de rotina nas nossas inoculações.

QUADRO II

Escarificação feita com:		V_1	V_{11}	V_{18}	V_{26}
mão do almofariz	com sulfito de sódio	2/6	4/6	3/6	3/6
	sem sulfito de sódio	4/6	3/6	4/6	3/6
espátula de vidro	com sulfito de sódio	3/6	3/6	4/6	3/6
	sem sulfito de sódio	2/6	3/6	4/6	2/6
boneca de gase	com sulfito de sódio	0/6	0/6	0/6	0/6
	sem sulfito de sódio	0/6	0/6	0/6	0/6

Estudo da sintomatologia

As quatro estirpes de vírus sobre que incidiu o nosso estudo deram origem, nos hospedeiros ensaiados, a sintomatologias idênticas observando-se apenas diferenças nos períodos de incubação e severidade de sintomas.

Nos Quadros III e IV estão indicados os períodos de incubação para cada uma das quatro estirpes e o tipo de reacção das plantas inoculadas.

Foram ensaiados ainda, fora da família das Compostas, os seguintes hospedeiros: *Lathyrus sativus* L., *Lathyrus odoratus* L., *Pisum sativum* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Solanum Lycopersicum* L. e *Nicotiana glutinosa* L.. Todas as inoculações feitas nestes hospedeiros resultaram negativas.

Os ensaios de inoculaçoes retrógradas não indicaram que qualquer destas plantas funcionasse de porta-vírus sem sintomas.

QUADRO III

Espécies de Compostas	Período de incubação em dias	Tipo de reacção
Calendula maroccana BALL.		Não é susceptível
Calendula suffruticosa VAHL		Porta-vírus sem sintomas
Carduus Broteroi WELW.		Não é susceptível
Carduus tenuiflorus CURT.		Não é susceptível
Centaurea sp.		Não é susceptível
Chrysanthemum coronarium L.		Não é susceptível
Cichorium Intybus L. (Chicória 'Imperial')		Porta-vírus sem sintomas
Cichorium Intybus L. (Chicória 'de Ruffec')		Não é susceptível
Crepis aspera L.		Não é susceptível
Crepis rubra L.		Não é susceptível
Cynara corsica VIV.		Não é susceptível
Lactuca Serriola L. var. *integrifolia* BISCHOFF	V_1 23 V_{11} 23 V_{18} 23 V_{26} 18	Embranquecimento das nervuras seguido de necrosamento. Contorsão acentuada das folhas onde mais tarde aparecem grandes manchas cloróticas. Nanismo acentuado no início do desenvolvimento
Lactuca livida BOISS. & REUT.	V_1 19 V_{11} 19 V_{18} 24-26 V_{26} 24-26	Sintomas idênticos aos anteriores
Lactuca Serriola L.	V_1 30 V_{11} 30 V_{18} 30 V_{26} 30	Mosaico muito leve sem subsequente intensificação. Desenvolvimento aparentemente normal das plantas

QUADRO IV

Variedades comerciais de alface	Período de incubação em dias	Tipo de reacção
'Couve de Nápoles'		Não é susceptível
'Londrina'	V_1 15-22 V_{11} 15-22 V_{18} 14-22 V_{26} 10-12	Embranquecimento das nervuras seguido de necrosamente dos tecidos junto a estes, estendendo-se por fim as necroses a toda a folha. É afectada consideràvelmente a formação do repolho. Desenvolvimento precário da planta e muitas vezes morte desta
'Princesa loura, frisada'	V_1 20-22 V_{11} 20-22 V_{18} 20-22 V_{26} 20-22	Mosaico nítido mantendo-se durante toda a vida da planta. O desenvolvimento não é afectado aparentemente
'Rainha de Maio repolhuda'	V_1 20-27 V_{11} 18 V_{18} 20-27 V_{26} 11-15	Embranquecimento das nervuras que passados dias escurecem estendendo-se este escurecimento ao parênquima próximo tomando a folha aspecto característico. Não é afectado o desenvolvimento da planta nem a formação do repolho
Repolhuda do tipo da 'Gigante'		Não é susceptível
'Roxa maravilha das quatro estações'		Porta-vírus sem sintomas
Alface do tipo da 'Sultana'	V_1 19-25 V_{11} 19-55 V_{18} 19-25 V_{26} 19-25	Embranquecimento das nervuras que passados dias escurecem estendendo-se este escurecimento ao parênquima próximo tomando a folha aspecto característico. Não é afectado o desenvolvimento da planta nem a formação do repolho

Estudo das propriedades físicas e químicas

Antes de iniciarmos o estudo das propriedades físicas e químicas das quatro estirpes de vírus, realizámos um ensaio com o fim de determinar se nas plantas infectadas o vírus se encontraria

em todos os seus orgãos. Obtivemos inoculações positivas apenas com o extracto de folhas doentes, único que usámos no estudo das propriedades. Como hospedeiro utilizámos sempre a alface 'Londrina'.

1) *Resistência à diluição*

Ao extracto, depois de filtrado através de diversas camadas de gase, juntávamos água destilada para obtermos as diluições requeridas.

Os resultados encontram-se no Quadro V.

QUADRO V

Estirpes de vírus	Extracto normal	Extracto diluído a				
		1/10	1/20	1/30	1/40	1/50
V_1	7/12	6/12	0/12	0/12	0/12	0/12
V_{11}	5/12	6/12	0/12	0/12	0/12	0/12
V_{18}	5/12	6/12	0/12	0/12	0/12	0/12
V_{26}	7/12	5/12	0/12	0/12	0/12	0/12

Verifica-se que a resistência à diluição destes vírus é muito baixa, estando compreendida entre os limites 1/10 e 1/20.

2) *Longevidade « in vitro »*

Os extractos foram conservados em tubos de ensaio sob as condições de laboratório de campo, anexo às estufas e inoculados a diferentes intervalos de tempo.

Experimentaram-se os intervalos de 0, 10, 15 e 24 horas. No Quadro VI estão resumidos os resultados.

QUADRO VI

Estirpes de vírus	Intervalos de tempo em horas			
	0	10	15	24
V_1	3/6	3/6	0/6	0/6
V_{11}	2/6	2/6	0/6	0/6
V_{18}	5/6	4/6	0/6	0/6
V_{26}	3/6	3/6	0/6	0/6

Concluímos assim que a longevidade «in vitro» das quatro estirpes de vírus é a mesma, estando compreendida entre as 10 e 15 horas.

3) *Resistência ao calor*

Os extractos a ensaiar eram aquecidos em banho-maria, dentro de tubos de ensaio estreitos, de paredes finas. Quando a temperatura desejada era atingida mantinha-se durante 10 minutos. A seguir inoculavam-se as plantas com os sucos assim tratados. Os resultados constam do Quadro VII.

QUADRO VII

Estirpes de vírus	Extracto normal	Extracto aquecido a			
		20° C	30° C	40° C	50° C
V_1	5/6	4/6	3/6	0/6	0/6
V_{11}	3/6	2/6	4/6	0/6	0/6
V_{18}	4/6	3/6	2/6	0/6	0/6
V_{26}	6/6	4/6	5/6	0/6	0/6

Poderemos concluir que as quatro estirpes de vírus em estudo têm a mesma resistência ao calor estando a temperatura letal compreendida entre 30 e 40° C.

4) *Resistência ao álcool*

Misturámos o extracto de plantas doentes com igual volume de álcool de graduação dupla da que desejávamos ensaiar, deixando-os em contacto durante 5 minutos. A inoculação era feita ao fim deste tempo.

Experimentámos o álcool a 20, 30, 40, 50 e 60 graus numa concentração final, portanto, de 10, 15, 20, 25 e 30 graus.

Os resultados encontram-se no Quadro VIII.

QUADRO VIII

Estirpes de vírus	Extracto normal	Extracto tratado com álcool a				
		10°	15°	20°	25°	30°
V_1	4/6	3/6	3/6	0/6	0/6	0/6
V_{11}	3/6	4/6	2/6	0/6	0/6	0/6
V_{18}	4/6	2/6	4/6	0/6	0/6	0/6
V_{26}	5/6	3/6	3/6	0/6	0/6	0/6

A resistência ao álcool das quatro estirpes de vírus é semelhante e muito pequena, todas perdendo a sua infecciosidade em 5 minutos quando à concentração de 20°.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Dos resultados que obtivemos nos ensaios realizados com as quatro estirpes de vírus, podemos concluir tratar-se de um mesmo vírus, uma vez que não notámos quaisquer diferenças, quer na susceptibilidade dos hospedeiros ou sintomatologia (apenas por vezes se notaram diferenças no período de incubação e severidade de sintomas), quer nos valores encontrados para a resistência à diluição, calor, álcool ou longevidade «in vitro», dos extractos.

É difícil comparar os nossos resultados com os indicados pelos vários autores que têm trabalhado com viroses de Compostas em virtude de não termos conseguido obter as mesmas linhas de plantas e ainda das diferenças climáticas sob que foram conduzidos os ensaios.

A sintomatologia observada por nós assemelha-se à descrita por Jagger na América, Brandenburg na Alemanha, Ainsworth & Ogilvie na Inglaterra, Kramer, Orlando & Silberschmidt no Brasil, para o mosaico da alface. Não se observaram nunca sintomas idênticos aos produzidos pelo «spotted wilt», «aster yellows» ou «big vein».

No entanto não podemos afirmar que se trate do mesmo mosaico da alface, porque embora a sintomatologia seja semelhante verificaram-se algumas diferenças. Assim, Ainsworth & Ogilvie verificaram a susceptibilidade do *Lathyrus odoratus* L. e do *Pisum sativum* L. que nos nossos ensaios se mostraram resistentes.

Os resultados que obtivémos quando do estudo das propriedades diferem muito dos encontrados por estes dois investigadores, por Fry (1952) e por Kenneth Smith (1957), sendo os valores determinados por nós sempre mais baixos.

A transmissão do vírus pela semente, indicada por muitos dos autores que trabalharam com o mosaico da alface, nunca foi verificada por nós.

Parece-nos, porém, que estaremos dentro da verdade se dissermos que, embora não se trate do mesmo vírus, ele é do mesmo grupo e é, pelo contrário, absolutamente distinto do «spotted wilt», «aster yellows» e «big vein».

Comparando os resultados que obtivémos nos nossos ensaios — nos quais se usaram sempre métodos mecânicos de transmissão — com os obtidos por Dias (1951) — nos quais a tramissão foi sempre feita pelos afídeos — notam-se algumas diferenças interessantes.

Verifica-se assim, que o período de incubação é encurtado quando a transmissão é feita pelos afídeos (*Macrosiphum pelargonii* Kelt.). Quanto à susceptibilidade dos hospedeiros observa-se que plantas que se tinham mostrado resistentes quando usados métodos mecânicos de transmissão, se mostraram susceptíveis quando esta era feita pelos insectos. Foi o caso da alface repolhuda do tipo da 'Gigante', do *Carduus Broteroi* Welw. do *Lathyrus sativus* L. e do *Pisum sativum* L..

Nas plantas que se mostraram susceptíveis usando qualquer dos dois tipos de tramissão a sintomatologia produzida é muito semelhante.

Do estudo que fizemos é importante salientar a existência de plantas porta-vírus sem sintomas (Alface 'Roxa Maravilha das Quatro Estações', *Calendula suffruticosa* VAHL, *Cichorium Intybus* L. — variedade comercial Chicória 'Imperial') e ainda o caso de todas as plantas susceptíveis, bienais ou vivazes, que mantendo-se no terreno de um ano para o outro, funcionam de repositório de vírus (*Calendula suffruticosa, Cichorium Intybus, Lactuca Serriola* var. *integrifolia, Lactuca livida* e *Lactuca Serriola*).

Dada a dificuldade que sempre encontrámos na transmissão mecânica do vírus em estudo, concluímos que a sua disseminação no campo se deve fazer quase exclusivamente pelos afídeos.

Sendo tão frequente nos hortejos e campos dos arredores de Lisboa encontrarem-se alfaces e outras Compostas, espontâneas, com sintomas de viroses (*Calendula* sp., *Chrysanthemum* sp., *Inula viscosa, Lactuca Serriola* var. *integrifolia* e var. *Serriola, Reichardia* sp., *Senecio* sp., *Sonchus oleraceus*) é natural que tal tipo de doença cause estragos importantes na cultura da alface.

Os agricultores costumam, para remediar o mal, cultivar variedades de alface em que os sintomas da doença consistem apenas em mosaico que não afecta o desenvolvimento e repolhamento das plantas ou ainda as variedades porta-vírus sem sintomas. A verdade, porém, é que umas e outras nem sempre são variedades de grande valor comercial.

Os meios de combate à virose em estudo são sempre de carácter preventivo.

Embora nunca tivéssemos observado a transmissão do vírus pela semente, o facto de ela ter sido verificada por muitos investigadores que provaram a importância que tem para a disseminação no campo, por intermédio dos afídeos, a existência de um foco, ainda que pequeno, de plantas doentes, impõe-se, antes de outro qualquer cuidado, o uso de semente isenta de vírus.

A situação dos viveiros é da máxima importância, devendo ser sempre feitos longe de terrenos onde haja ou tenha havido culturas de alface e ainda longe de plantas ornamentais susceptíveis. Por meio de tratamentos adequados, deve dispensar-se todo o cuidado à protecção dos viveiros no que diz respeito a ataques de afídeos.

É indispensável proceder-se a inspecções periódicas dos viveiros, arrancando-se todas as plantas que mostrem sintomas da doença e as plantas espontâneas que possam funcionar de porta-vírus sem sintomas.

SUMÁRIO

Fez-se o estudo de quatro estirpes de vírus de um mosaico da alface focando os aspectos: transmissão por métodos mecânicos, sintomatologia produzida em diferentes hospedeiros, estudo da resistência à diluição, ao calor e ao álcool e longevidade dos extractos doentes «in vitro».

Destes ensaios concluiu-se estar-se em presença de uma mesma estirpe de vírus, ou pelo menos, de quatro estirpes muito próximas, dada a identidade de comportamento. O vírus estudado mostrou ser de difícil transmissão mecânica e de fraca resistência à diluição, calor e álcool e de pequena longevidade «in vitro».

Fez-se uma revisão bibliográfica das viroses de Compostas e compararam-se os resultados dos ensaios realizados com os indicados pelos vários autores, concluindo-se que a virose em estudo está incluída no grupo dos mosaicos da alface.

SUMMARY

Four isolates of lettuce mosaic, established from several virus collections made in Portugal have been studied.

Virus cultures were established in the greenhouse by mechanical transmission and symptoms described on several hosts. Physical properties, such as dilution end point, termal death point, longevity *in vitro*, resistance to alcohol were determined.

The four isolates behaved similarly in all tests, from which it has been concluded that only one strain of the virus was involved. This proved to be transmitted mechanically only in low percentages, and to have little resistance to dilution, to heat treatment, to alcohol and to storage.

From a comparision of our results and those refered by other authors it is concluded that the virus studied belongs to the group of lettuce mosaics.

AGRADECIMENTOS

Ao Sr. Professor Branquinho de Oliveira que nos sugeriu este trabalho, queremos agradecer todas as indicações e ajudas que nos deu.

À Sr.ª Dr.ª D. Maria de Lourdes de Oliveira agradecemos todos os ensinamentos que nos proporcionou e a boa-vontade com que sempre atendeu as nossas dúvidas, e à Sr.ª Dr.ª D. Maria de Lourdes Borges todo o auxílio que nos prestou.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ainsworth, G. C.
1936 Detection of spotted wilt virus in *Chrysanthemum*. *Nature, Lond.* **137**: 868.
—— & Ogilvie, L.
1939 Lettuce mosaic. *Ann. appl. Biol.* **26**: 279-297.
Aycock, R. & Winstead, N. N.
1955 Viruses plague lettuce. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **36**: 446.
Brandenburg, E.
1928 Über Mosaikkrankheiten an Compositen. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **8**: 323-325.
Bremer, H.
1952 Salatmosaik. Ein Sammelbericht. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **32**: 230.
Broadbent, L.
1951 Lettuce mosaic in the field. *J. Minist. Agric.* **57**: 578-582.
Couch, H. B.
1955 Studies on seed transmission of lettuce mosaic virus. *Phytopathology* **45**: 63-70.
Dias, H. F.
1951 Uma virose da alface. Sua transmissão pelos afídeos. *Agron. Lusit.* **13**: 153-169.
Frazier, H. W. & Severin, H. H. P.
1945 Weed-host range of California Aster-yellows. *Hilgardia* **16**: 621-650.
Fry, P. R.
1952 Lettuce mosaic. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **32**: 7.
Grogan, R. G. & Bardin, R.
1950 Some aspects concerning seed transmission of lettuce mosaic virus. *Phytopathology* **40**: 965.
——, —— & Schnathorst, W. C.
1954 Field occurrence of an unusual virus disease of head lettuce. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **33**: 519.
——, Welch, J. E. & Bardin, R.
1951 The use of mosaic-free seed in controlling lettuce mosaic. *Phytopathology* **41**: 939.
1952 Common lettuce mosaic and its control by the use of mosaic-free seed. *Phytopathology* **42**: 573-578.

HEROLD, F.
1956 Ist eine wirksame Bekämpfung des Salatmosaik Virus möglich? Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **36**: 510.

JAGGER, I. C.
1921 A transmissible mosaic disease of lettuce. *J. agric. Res.* **20**: 737-740.
1940 Brown blight of lettuce. *Phytopathology* **30**: 53-64.

JAGGER, I. C. & CHANDLER, N.
1934 Big-vein, a disease of lettuce. *Phytopathology* **24**: 1253-1256.

KASSANIS, B.
1944 A virus attacking lettuce and dandelion *Nature, Lond.* **154**: 16.

KRAMER, M., ORLANDO, A. & SILBERSCHMIDT, K. M.
1945 Estudos sobre uma grave doença de vírus, responsável pelo deperecimento de nossas calturas de alface. *Biológico* **11**: 121-134.

KUNKEL, L. O.
1926 Studies on Aster yellows. *Biol. Abstr.* **1**: 6456.

LINN, M. B.
1940 The yellows diseases of lettuce and endive. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **20**: 337.

LOJKIN, M. & VINSON. C. G.
1931 Effect of enzymes upon the infectivity of the virus of Tobacco mosaic. *Contr. Boyce Thompson Inst.* **3**: 147-162.

MAGEE, C. Y.
1936 Spotted wilt diseases of lettuce and potatoes. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **15**: 538.

MARINI, E.
1955 Una virosi trasmessa per seme: il mosaico della latuga. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **36**: 82.

NEWHALL, A. G.
1923 Seed transmission of lettuce mosaic. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **2**: 432.

OGILVIE, L.
1927 Aster yelows in Bermuda: a disease of many cultivated plants. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **6**: 667.

PRYOR, D. E.
1946 Exploratory experiments with the big-vein disease of lettuce. *Phytopathology* **36**: 264-272.

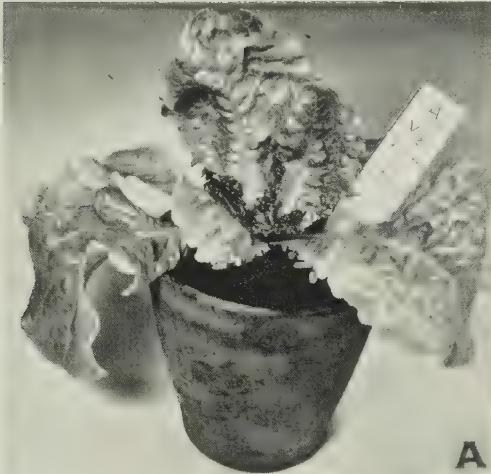
RICH, S.
1950 Soil treatments for the field control of lettuce big-vein. *Plant Dis. Reptr.* **34**: 253-255.

SEVERIN, H. H. P.
1929 Yellows disease of celery, lettuce and other plants transmitted by *Cicadula sexnotata* Fall. *Hilgardia* **3**: 543-583.

———— & FREITAG, J. H.
1945 Additional ornamental flowering plants naturally infected with California Aster-yellows. *Hilgardia* **16**: 599-618.

SMITH, K. M.
1935 Some diseases of ornamental plants caused by the virus of tomato spotted wilt. *J. R. hort. Soc.* **60**: 304-310.

SMITH, K. M.
1937 *A textbook of plant virus diseases*. London, J. & A. Churchill Ltd.
1957 *A textbook of plant virus diseases*. London, J. & A. Churchill Ltd.
STUBBS, L. L.
1954 Lettuce mosaic virus disease. *J. Dep. Agric. Vict.* **52**: 259-264.
SYLVESTER, E. S.
1955 Lettuce mosaic virus transmission by the green peach aphid. *Phytopathology* **45**: 357-370.
THOMPSON, R. C.
1951 Lettuce varieties and culture. *Fmrs' Bull. U. S. Dep. Agric.* **42**.
——— & DOOLITTLE, S. P.
1942 Influence of temperature on the expression of big-vein symptoms in lettuce. *Phytopathology* **32**: 542-544.
———, ——— & SMITH, F. F.
1944 Investigations on the transmission of big-vein of lettuce. *Phytopathology* **34**: 900-904.
TOMPKINS, C. M. & GARDNER, M. W.
1934 Spotted wilt of head lettuce. *Phytopathology* **24**: 1135-1136.
ULLRICH, I.
1954 Untersuchugen über Salatmosaik (Vorläufige Mitteilung). *NachrBl. dtsch. PflSchDienst., Stuttgart* **6**: 182-184.
1956 Die Samenübertragung des Salatmosaiks und ihre Bedeutung für den Salatsamenbau. *Züchter* **26**: 25-27.
VASUDEVA, R. S., RAYCHAUDHURI, S. P. & PATHANIAN, P. S.
1948 Yellow mosaic of lettace. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **28**: 47.
WATSON, R. D.
1945 Aster yellows and its insect vector in Texas. Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **24**: 9.
WILKINSON, R. E. & HIRSCH, U.
1952 Local lesions hosts for the lettuce mosaic virus. *Phytopathology* **42**: 478.
YARWOOD, C. E.
1954 Tobacco necrosis virus on lettuce. *Plant Dis. Reptr.* **38**: 263.
ZINK, F. W., GROGAN, R. G. & WELCH, J. E.
1956 The effect of the percentage of seed transmission upon subsequent spread of lettuce mosaic virus. *Phytopathology* **46**: 662-664.





A — Descoloração das nervuras das folhas mais velhas e necrosamento das folhas centrais na alface 'Londrina'
B — Mosaico numa folha de alface 'Princesa loura frisada'

ERRATUM

(*Agronomia Lusitana*, vol. 21, pages 59 to 62)

Throughout Tables III to V of Part I of this paper *yield* should be taken as *t/ha* instead of *q/ha*.

EXPERIMENTS ON CONTROL OF THE PESTS OF THE YELLOW LUPIN (*LUPINUS LUTEUS* L.)

II — CULTURAL PRACTICES (¹)

BY *G. MAGALHÃES SILVA* & *AUGUSTO J. DE OLIVEIRA*
(Estação Agronómica Nacional)

INTRODUCTION

IN the studies on control of the lupin pests, other means than insecticides were included. Taking in account a recognized initial critical period, it was assessed, in properly designed experiments, if — as it was logically to be expected — all the factors that would reduce that period, giving a good start to the seedlings, would also reduce the pest damage. Accordingly, the following factors were tried: planting time, seed-bed preparation, amount of seed, fertilizing and soil acidity correction, whose results are discussed.

The experiments were sometimes designed exclusively for those factors and sometimes (case of the 1952-53 experiments on the amount of seed) included in complex experiments, from where particular data were extracted.

We wish to emphasize that these are not independent assays of the factors, but only of the way they can improve the lupin yield by controlling the adverse action of the pests.

It is obvious that any of those protective actions will be much more evident in the unfavourable years — unfavourable because of the weather or because of an early generalized pest outbreak. The favourable years will naturally mask any of those effects, due to the natural good start provided to the germination and development of all the seeds.

(¹) For Part I see *Agron. Lusit.* **21**: 43-74. 1958.

Some of those factors have been referred previously, but are nevertheless included here in order to stress their particular effects.

MANAGEMENT OF EXPERIMENTS

For all the set up of the experiments Part I may be seen, since no particular alteration was introduced for this series of trials.

RESULTS AND DISCUSSION

Experiments on time of planting

During 4 years, from 1949 to 1953, studies have been carried out, in the Pègões area, on the effect of the time of planting on the pest behaviour and consequently on the lupin yield. With all the values from eight new trials Table I was built up, on which 3 periods of planting are considered:

1st period (S_1): 1-15 September
2d » (S_2): 16-30 »
3d » (O_1): 1-15 October

TABLE I

Green matter yield, in metric quintals, from experimental plots with no insecticide application. Soil type III.

Location	1949-50		1950-51			1951-52 (1)			1952-53 (2)	
	S_2	O_1	S_1	S_2	O_1	S_1	S_2	O_1	S_2	O_1
Pègões Exptl. Center	434	60	80	200	44	332	334	397	343	240
Pègões Velhos	83	—	27	28	10	158	184	182	11	39

NOTE: Data from fields not ploughed nor fertilized. (1) Soil type I for «Pègões Velhos»; (2) Soil type I for «Pègões Exptl. Center».

Table I shows a marked variation from year to year and from field to field, the effects from the soil type being superimposed and confounding somewhat the results.

In spite of that fluctuation, an advantageous effect of S_2 and the relative inferiority of S_1 can be recognized.

An year by year reading shows in 1949-50 a marked superiority of S_2 over O_1, information from only one experiment; in 1950-51,

the same trend was shown in the two fields, being $S_2 - S_1$ in one of them; in 1951-52, S_2 is practically the same as O_1 in the two fields; during 1952-53, the superiority or S_2 and of O_1 is distributed erratically between the two fields, following the capricious September rainfall, practically all due to thunderstorms, favouring some places and dodging some others completely.

Considering the whole period it seems that it can be concluded for *the relative inferiority of* S_1 *and for the better probability of good yield with* S_2; probability that is almost as good with O_1.

What is known about the effects of the time of planting posterior to O_1, allows us to discourage the planting after that time; the November planting has always shown very poor results.

All this findings are in good agreement with the general procedure prior to the experiments. According to it, the early planting (September) was considered the one giving the highest yields: when the rainfall comes favourably, the growing period before wintertime is larger and so the plants can benefit from the higher temperatures. This prewinter growing is very important for the green matter yield, the larger number of sun hours of March photoperiodically inducing the blossoming of plants, whichever the height reached. A less grown crop cannot then recover by a longer cycle this handicap; it can be quite realized now that the highest yields are always connected with an early planting.

However, if the first rains come late in the season, then the yields are, in general, lower and so the advantage goes to the October planting. Then the seeds used in the early planting are running more risks, and, obviously, the plant density is reduced.

This discussion is valid only to the Pègões area: in the Chamusca-Ponte de Sor area every crop grows later in the season and so the October planting is considered the best one.

Experiments on seed-bed preparation

As referred in Part I, only two different ways of seed-bed preparation were considered: first the regional way (harrowing), which, on the most favourable cases, is nothing but a shallow tillage using a primitive plough, followed by an harrowing to cover the seed; the second one (ploughing) consisting of a 25-30 cm tillage with a tractor plough, followed by a disking crosswise to cover the seed.

Table II compiles data extracted either from a total of nine experiments dealing exclusively with this factor or from complex schemes; in both cases separation was maintained between the periods of planting, since it could not be accepted as legitimate to put together, as means, data affected by a factor sometimes so significant.

Under a similar reasoning, data from year to year were not also presented as means, values that represent nothing in cases like this one, affected by so variable factors.

TABLE II

Green matter yield, in metric quintals, for experiments with different seed-bed preparation (amount of seed: 100 kg/ha).

Year	Location	Soil type	Ploughed			Harrowed		
			S_1	S_2	O_1	S_1	S_2	O_1
1949-50	Pègões Exptl. Center	III	—	455	85	—	434	60
1950-51	Pègões Exptl. Center	I	133	323	291	77	93	37
	Pègões Velhos	II	93	71	50	28	27	11
1951-52	Pègões Exptl. Center	I	342	332	308	314	378	331
	Pègões Exptl. Center	II	341	389	398	332	334	397
	Pègões Velhos	I	180	268	252	158	184	182
1952-53	Zambujal	I	—	454	360	—	454	390
	Pègões Exptl. Center	I	—	—	286	—	386	314
	Pègões Velhos	III	—	300	162	—	22	38

NOTE: No fertilizer nor insecticide applications at all the nine trials.

The discussion in therefore presented year by year, taking in account some particular factors of marked influence.

The heaviest difference in favour of the ploughed seed-bed was found during the year 1950-51, both in the high level of yield corresponding to the soils of type I at « H » field and in more modest level (about 1/4 in this case) of soils of the type II, at Pègões Velhos.

During that year an outbreak of *Noctuae* was recorded that affected very much all the experiments and completely erased one of them, a second year crop. The outstanding effect of the tillage

in this particular year seems to have been due to the destruction of the pasture it caused, thus compelling the *Noctuae* larvae to migrate or die; so, when the lupin seeds germinated they were no more attacked by the voracious insects. The irregular distribution of the rainfall emphasized even more the protective action of the tillage.

It can be clearly recognized that in relation to this particular factor, the tillage, the general rule also stands: in a favourable year to the crop, with well distributed rainfall, the protective effects of any crop management practice are minimized or even neutralized. During years like 1951-52 and 1952-53 and with the soils of more convenient profile (type I), the tillage showed practically no effects and sometimes was even inferior.

In soils of types II and III (Pègões Velhos), however, tillage proved to be in all cases a vere favourable practice, sometimes in a striking way, as shown by the Pègões Velhos experiment (1952-53) with an increase of 4 to 15 times.

Experiments on the amount of seed

The amount of seed was one of the factors studied during 1952-53 in a complex group of trials [1] including 8 experimental fields scattered over a vast area, with plots splitted for amount of seed.

From the numerous data concerning the check plots only the ones corresponding to the « number of plants per square meter » and the « green matter yield » for the two amounts of seed on trials (70 and 100 kg/ha) are shown in Table III. In order to give some more pertinent information the values concerning the best treatment using insecticide (6 kg/ha Dieldrin 15 % w. p.) were added.

From the 1952-53 progress report the following general conclusions are transcribed:

— The difference between the two halves of the plots corresponding to the two different amounts of seed was very conspicuous during the first weeks of growing; pretty soon, however, it was harder and harder to distinguish

---

[1] Already referred in Part I.

them until it was no more possible to recognize one from the other.

— In general, it can be said that no significant difference was noticed between the two amounts of seed used, either for the infestation by the *Sitona* or for the green matter yield.

— Some locations have nevertheless to be excepted, *v. g.* Zambujal, with high yield and Gorjão with low yield. In both cases, the 100 kg/ha halfplots gave sistematically a higher yield, attaining sometimes a 25 % increase.

— In the Pègões Experimental Center only the check plots showed advantage in favour of the 100 kg/ha density.

TABLE III

Mean values of « number of plants per sq. meter » and « green matter » (q/ha) for the 1952-53 experiments on the amount of seed.

Location	Soil type and plantation		Dieldrin plots (1)				T — Check plots			
			70 kg/ha		100 kg/ha		70 kg/ha		100 kg/ha	
P. Exptl. Center (« 1 »)	I	S_2	28	462	20	474	12	300	16	386
		O_1	34	348	68	308	10	184	12	314
Zambujal	I	S_2	34	434	52	500	18	390	28	454
		O_1	42	364	40	464	38	434	50	412
Pègões Velhos	III	S_2	20	24	16	42	24	10	22	12
		O_1	86	66	18	90	38	40	12	38
Salvaterra de Magos	I	S_2	43	471	48	523	33	257	42	302
		O_1	46	412	70	406	42	474	52	414
Gorjão	I	S_2	28	189	44	213	35	110	56	153
Canha	II	S_2	26	100	53	118	26	36	35	47
Arcebispa	I	S_2	34	322	48	326	20	334	24	378
Grândola	II	S_2	—	—	20	(2)	—	—	20	(2)

NOTE: Data from harrowed fields, with no fertilizer application. (1) Dose *O* of Dieldrin; (2) Yield not weighed.

It is possible, it is even very likely, that the optimum amount of seed to be used will be economically rated between the 70 kg/ha and the 100 kg/ha.

Experiments on fertilization

Experiments on the effect of fertilizers, especially phosphate, on the behaviour of the pests and consequently on the yield were included for the first time in our 1951-52 plan of trials.

In order to give more weight to the conclusions to be extracted out of the data obtained on the trials, from 1951-52 through 1953-54 (subjected of course to future confirmation), some data from the 1945-46, 1946-47 and 1947-48 progress reports of the Experimental Center were picked out. With them Table IV was set up, in which data for green matter, grain and straw yields were included.

TABLE IV

Mean values of yield (q/ha) per fertilizer treatment for several years at two fields of Pègões Experimental Center.

Nutrients			1945-46			1946-47			1947-48		
N	P	K	Field «1a»	Field «1b»		Field «1a»	Field «1b»		Field «1a»	Field «1b»	
			(a)	(b)	(c)	(a)	(b)	(c)	(a)	(b)	(c)
0	0	0	183	—	12	161	5.6	107	164	3.8	49
1	0	0	210	—	6	132	5.4	83	—	—	—
0	1	0	353	—	13	204	5.4	76	132	4.7	77
1	1	0	295	—	15	159	6.6	114	—	—	—
0	0	1	179	—	10	180	3.6	65	—	—	—
1	0	1	212	—	13	195	4.4	84	—	—	—
0	1	1	332	—	15	241	6.8	123	172	4.7	95
1	1	1	294	—	13	201	5.7	95	185	4.1	65

NOTE: (a), (b) and (c) stand for green matter, grain and straw, respectively. In the first column, 0 and 1 mean absence and presence of nutrient.

In Table IV the levels for *N, P, K* were:

(N) Ammonium nitrate: 50 kg/ha, or none
(P) Superphosphate (18 %): 250 kg/ha, or none
(K) Potassium chloride: 50 kg/ha, or none

From a direct reading of Table IV it can be recognized a very marked effect due to the phosphate fertilization either on the green matter or on straw and grain yields.

On the contrary, potassium shows a very dubious influence.

For nitrogen there was no effect at all, sometimes it was even slightly negative.

These conclusions led us to shift all the importance to P, during the 1951-52 through 1953-54 trials; the nutrients N and K were also included (Table V).

The $N_1 P_1 K_1$ combination adopted in 1951-52 and forward, the one thus used at the Pègões Experimental Center:

N_1 — Ammonium nitrate	25 kg/ha
P_1 — Calcium superphosphate (18 %) . .	200 kg/ha
K_1 — Potassium chloride	100 kg/ha

was considered in the designs. In all cases the low doses were always zero.

During the 1952-53 season this formula was included in all the experiments, scattered all over the pliocenic and miocenic zones south of the river Tagus.

TABLE V

Mean values (q/ha) of green matter per fertilizer treatment for experiments carried out at several locations (Infestation controlled by Dieldrin).

Nutrients N P K	1951-52	1952-53	1953-54					
	Soil I	Soil I	Soil I		Soil II		Soil III	
	(2)	(3)	P. Velhos	Grândola	P. Velhos	Grândola	P. Velhos	Grândola
0 0 0 (1)	343	296	92	120	41	303	191	73
0 0 0	—	—	48	103	22	326	233	136
1 0 1	—	—	83	174	22	161	147	126
1 1 1 (1)	412	314	179	262	250	404	293	229
1 1 1	—	—	167	302	287	383	292	313
1 2 1	—	—	438	322	334	427	332	328

NOTE: In the first column, 0 and 1 mean absence and presence of the nutrient, and 2 refers to a double dose. (1) No insecticide treatment; (2) Pègões Exptl. Center, field F; (3) Pègões Exptl. Center, field 1.

In the following year, 1953-54, the design adopted, for the first time, the three categories of soils considered tentatively by CARDOSO (1953-1955) in his study to clarify the doubts arisen as to the effects of the insecticides. In this series of trials three levels of P were considered: P_0, P_1 and P_2 corresponding to 0, 200 and 400 kg/ha of 18 % Superphosphate, respectively; a dose

of Dieldrin (treatment *O*) was added in some cases in order to make independent the effect of the pests.

All the pertinent data for the 8 new trials are included in Table V. Even taking in account that this is a line of work to be explored in future, the classification advanced shows itself unable to explain some anomalies found, due very likely to heterogeneity, mainly inside the I and II types of soils considered. Therefore, more categories of soils will have to be separated.

Meanwhile, in the soils of Type I (with slight podzolization), Type II (showing some podzolization and a shallow clay stratum) and Type III (podzols) for 1953-54, phosphate addition always showed a beneficial effect.

No significant diferences were found between the two levels studied; therefore it seems that, over 200 kg/ha of Superphosphate, it was not worth to fertilize.

As to *N* and *K*, taken simultaneously, no evidence was recognized favouring their use at Pègões Velhos, but it is apparent some effect at the Grândola fields.

Experiments on liming

The addition of calcium carbonate (2 000 kg/ha), to counterbalance the low soil pH, is included in the regular studies of

TABLE VI

Mean values of percentage of infestation by Sitona *and green matter (q/ha) for experiments on liming carried out at several locations. (No application of insecticide)*

Variable measured	1951-52				1952-53					
	P. Exptl. Center		P. Exptl. Center		P. Exptl. Center		Zambujal		Pègões Velhos	
	Soil I		Soil II		Soil I		Soil I		Soil III	
	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)
% infestation	69	67	96	98	89	74	57	54	62	79
Green matter	270	420	223	229	368	383	443	429	37	49

(a) Plots with 2000 kg/ha of calcium carbonate; (b) check plots.

an improved crop rotation at the Pègões Experimental Center. Accordingly to our purpose of trying all the factors that could

possibly have some effect on the behaviour of the pests of lupin, this practice was also included in our plan of work.

In Table VI are included the data from 2 years of experiments including five trials; the data from the 1953-54 experiments are not mentioned because in that case lime addition was always accompanied by some other factors.

In no case any advantage was recognized from the lime addition. This finding was logically to be expected, since the lupins show so striking an adaptability to the acid conditions, mainly in the seedling stage.

Infestation by *Sitonae* showed a tendency to increase.

CONCLUSIONS

Some cultural practices were studied in about 30 experimental fields as to their possible effects upon the pests of lupins; they showed favourable action on certain conditions, chiefly under adverse weather.

Tillage proved to be very advantageous, mainly when a generalized infestation by cutworms occurs, since the destruction of the weeds force the larvae to migrate or die, by lack of food, providing thus a chance for the lupin seeds, soon to germinate.

Fertilizing, particularly with phosphates, caused a high gain in yield, especially striking in the soil types II and III (both with a shallow hardening — Table V).

The *time of planting* oftener favourable observed in the Pègões region was the second half of Setember, followed by the first half of October. Late planting failed to provide high yields.

Amount of seed — when some protective means are used, it seems that the amount commonly used in Pègões (100 kg/ha) can be somewhat reduced.

Lime corrective showed no favourable effect to the lupin crop.

During all these experiments, our convincement grew as to the unnecessity of all or some of these practices when one year of favourable weather conditions occurs, thinking mainly of the rainfall.

In an year with plenty of rainfall well spaced along the season, falling during the periods of most need for the lupin, the development of the plants is sufficiently rapid to replace the damage due to the action of the pests, even in the case of

a heavy infestation. The protective effect of one or various practices can thus be masked.

Notwithstanding, such years are scarce and of no known forecast. To the farmer remains only the way of applying the good practices in order to warrant regularly good crops.

The best proved practices in our experiments take thus the form of an «insurance» paid to the crop.

SUMÁRIO

Em ensaios distribuídos por cerca de 30 campos, as práticas culturais, cujos efeitos se procurou averiguar em relação à possível protecção contra as pragas da tremocilha, mostraram-se, algumas delas, com efeitos muito favoráveis em certos casos, sobretudo em condições adversas de clima.

A *lavoura* revelou-se muito vantajosa, sobretudo no caso do ataque generalizado das roscas, pela destruição das ervas espontâneas, a qual obriga as larvas a migrar ou morrer, salvando-se assim a tremocilha prestes a nascer.

A *adubação*, sobretudo a fosfatada, conduziu a um elevado aumento de produção, em especial nos solos de tipo II e III (ambos com compactação próxima da superfície).

A *época da sementeira*, que na região de Pègões se evidenciou mais frequentemente como a melhor, foi a segunda quinzena de Setembro, algumas vezes acompanhada ou ultrapassada pela primeira quinzena de Outubro. Sementeiras tardias mostraram-se incompatíveis com altas produções.

A *quantidade de semente* julga-se poder baixar um tanto dos 100 kg/ha usados em Pègões, desde que se usem modalidades protectoras.

A *correcção calcária* não conduziu a qualquer melhoria reconhecida para a cultura da tremocilha, como aliás era lógico esperar.

No decorrer dos ensaios ficou-nos bem vincada a ideia de que nenhuma daquelas é porém necessária em ano com condições meteorológicas ideais, sobretudo no que diz respeito a chuvas.

Um ano deste tipo, com chuvas abundantes e bem distribuídas, caindo nas alturas mais favoráveis ao desenvolvimento da tremocilha, é capaz de mascarar qualquer medida protectora posta em prática. O crescimento das plantas é suficiente de sobra para

fazer face aos estragos das pragas, por muito abundantes e activas que sejam.

Mas, anos assim são pouco frequentes e de previsão impossível. Não deve estar, portanto, nos moldes de uma lavoura progressiva aguardar da sorte aquilo que pode conseguir de uma maneira estável e quase garantida por meio da aplicação de práticas protectoras, reconhecidamente efectivas.

Os mais eficazes resultados obtidos nos nossos ensaios tomam assim o aspecto de um « seguro » pago à cultura.

AKNOWLEDGMENTS

To carry out this work, valuable help was given by people from all agencies contacted. Our best thanks are due to Engs. Agrs. A. Pessoa Lopes and A. Lopes Ribeiro (Repartição de Culturas Arvenses, Lisboa), F. Moreira Aranha (Repartição de Serviços Fitopatológicos, Lisboa), F. Pereira Beija (Brigada Técnica da XIII Região, Setúbal) and Reg. Agr. Henrique de Oliveira (Posto Experimental de Pègões, Setúbal). Our thanks also to Reg. Agr. A. Silva Tinoco, for the computing, and Miss Mariana Cruz for the careful clerk work.

REFERENCES

Cardoso, J. de Carvalho

1953-1955 *Levantamento pedológico dos campos experimentais para estudo dos meios de combate às pragas da tremocilha.* E. A. N., Sacavém (typewritten).

Silva, G. Magalhães & Oliveira, Augusto J. de

1959 Experiments on control of the pests of the yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) I. Insecticides. *Agron. Lusit.* **21**: 43-74.

COMPORTAMENTO FÍSICO DE UMA ALUVIÃO DE ALVALADE (SADO) E SUA CORRECÇÃO

ESTUDO PRELIMINAR [1]

POR *A. ANTUNES DA SILVA*
(Estação Agronómica Nacional)

MUITAS aluviões apresentam más condições físicas pela sua textura, quando predominem as fracções de limo e areia fina, agravadas se há presença de sais solúveis, principalmente cloreto de sódio, e quando a percentagem de cálcio no complexo de troca é baixa.

Foi-nos pedida a solução para um caso de más condições físicas de uma aluvião do rio Sado, situada na Estação de Culturas Regadas de Alvalade, problema este de interesse pela representação extensa desta aluvião e também pela dificuldade que essas más condições opõem aos ensaios na referida Estação.

As más condições físicas reflectem-se principalmente na baixa permeabilidade e na tenacidade elevada da aluvião quando seca. Assim, a primeira rega destes solos realiza-se de uma maneira relativamente fácil mas as seguintes já são muito difíceis, chegando a água de rega a permanecer à superfície dois e mais dias. Os solos, depois de secos, só muito dificilmente podem ser lavrados; normalmente, só após uma chuvada ou uma rega e depois de entrarem em sazão se consegue fazer uma lavoura razoável. As condições físicas reflectem-se nas produções que se mantêm abaixo da produtividade potencial deste solo.

---

[1] A colega D. MARIA LUÍSA NAVARRO CID DE BARROS E SOUSA, do Departamento de Estatística, realizou a interpretação estatística e o Auxiliar de Laboratório JORGE FERREIRA uma parte das análises, pelo que lhes apresentamos os nossos agradecimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. *O solo*

O talhão E-4 da Estação de Culturas Regadas, bem representativo da aluvião, apresenta o seguinte perfil:

0 — 30 cm — Cor castanho-escura (10 Y R), textura franca, estrutura massiça, cimentação endurecida no estado seco e solta quando húmido. Sem elementos grosseiros; algumas raízes e galerias de anelídeos. Sem efervescência ao H Cl a 10 %.

30 — ? — Cor e estrutura idênticas às anteriores. Textura franco-argilosa. Sem galerias nem raízes. Com maior coesão. Sem efervescência ao H Cl a 10 %.

NOTA — Encontrámos a uns 15 cm da superfície um nódulo de calcário pulverulento com 3 cm de diâmetro que julgamos proveniente das calagens a que o solo foi sujeito. Cavando no perfil foram encontrados mais alguns destes nódulos, mas sòmente nos primeiros 30 cm.

As amostras colhidas nas duas camadas apresentam as características físico-químicas seguintes:

PROFUNDIDADE	0 — 30 cm	30 — 50 cm
Humidade	2,28 %	2,51 %
Análise mecânica		
Fracção > 2 mm	0	0
Areia grossa	5,45 %	4,63 %
Areia fina	45,45 %	41,97 %
Limo	32,85 %	30,95 %
Argila	16,25 %	22,45 %
Textura	Franca	Franco-argilosa
Água do solo		
% a pF 2	32,1	29,3
% a pF 2,7	24,8	20,9
% a pF 4,2	6,3	8,5
Condutividade no E. S. em milimhos/cm	0,426	0,328
Estabilidade dos agregados		
Coeficiente de Alten	91,0 %	90,3 %
Razão de Middleton	45,7 %	48,4 %
Macro-agregados	Completamente instáveis	Completamente instáveis
Densidade aparente		
Solo seco ao ar	1,46	1,52
Solo saturado	1,45	1,50

Porosidade	41,4 %	40,2 %
Expansibilidade	1,2 %	1,3 %
Índice de expansibilidade	7,4 %	6,3 %
pH	7,8	7,9
Carbonatos livres	Vestígios	0
NaCl em mg/100 g solo	5,0	6,5
Matéria orgânica	1,6 %	
Fósforo assimilável	9,5 m.e.	
Potássio assimilável	8,0 m.e.	
Catiões de troca		
Hidrogénio	0,25 m.e.	1,00 m.e.
Cálcio	8,47 m.e.	5,04 m.e.
Magnésio	1,23 m.e.	0,95 m.e.
Potássio	0,12 m.e.	0,10 m.e.
Sódio	0,44 m.e.	0,50 m.e.

Pela análise mecânica verifica-se que *a primeira camada do solo tem uma percentagem de areia fina + limo igual a 78,30, valor elevadíssimo* que, quando o solo não se apresenta em agregados estáveis à água, lhe comunica propriedades de baixa permeabilidade. O mesmo se dá com a segunda camada.

A baixa condutividade do solo não revela a existência de sais solúveis em teores que o possam prejudicar ou às plantas, o que é confirmado pela determinação do cloreto de sódio cujos valores de 5 mg/100 g de solo e 6,5 mg/100 g, na primeira e na segunda camada respectivamente, são de facto muito baixos. Os 0,44 m.e./100 g de sódio de troca da primeira camada representam sòmente cerca de 5 % dos catiões de troca, sendo a percentagem idêntica para a segunda; trata-se, pois, de *um solo normal* (Black, 1957).

A argila, nas percentagens de 16,25 e 22,45, mesmo quando bem floculada, não pode ter uma acção muito marcada sobre a estrutura do solo.

Se considerarmos a capacidade utilizável do solo para a água como a diferença entre as percentagens a pF 2 e a pF 4,2 verifica-se que o solo tem uma boa capacidade utilizável, respectivamente 25,8 % e 20,8 % na primeira e na segunda camada.

O solo é medianamente provido de matéria orgânica, tem alto teor de fósforo assimilável e muito baixo teor de potássio assimilável.

A densidade aparente é um pouco elevada, a porosidade baixa

e a expansibilidade é muito pequena. O índice de expansibilidade igual a 6,39 %, na primeira camada, sugere-nos tratar-se de uma aluvião com argilas de

$$SiO_2/Al_2O_3 < 1,94 \quad e \quad SiO_2/R_2O_3 < 1,69$$

Dado o valor inferior a 2 deste último índice, o solo seria friável (BOTELHO DA COSTA & BASTOS MACEDO, 1955).

A observação dos índices de estabilidade dos agregados à água indica-nos tratar-se de um solo muito bem floculado e muito mal cimentado. Os valores do coeficiente de Alten correspondem a solos completamente estáveis no que respeita à argila, enquanto que os da razão de Middleton já correspondem a cerca de metade das partículas de diâmetro inferior ao do limo que não mantêm a ligação quando em suspensão na água. A instabilidade dos macro-agregados confirma a má cimentação do solo.

2. *Correcção das propriedades físicas do solo*

A história cultural do talhão E 4 a que pertence o solo em estudo conhece-se com muito pormenor desde 1948. Dos dados do talhão E 4 destacaremos sòmente os que nos pareceram mais importantes para basearmos o nosso esquema de correcção.

O talhão está sujeito à seguinte rotação:

1.º ano — Fava (estrumada) e Milho
2.º » — Trigo e Milharada
3.º » — Ferrejo (com calagem), Batata (estrumada) e Couve
4.º » — Trigo e Milharada

De 1948 até o presente (1959) foram aplicadas as três calagens seguintes:

Ano	Peso em kg/ha	Natureza do correctivo
1948	2 500	Cal viva
1952	2 500	Calcário moído
1956	3 000	» »

As estrumações aplicadas a este solo, em igual período, foram as seguintes:

Ano	Estrume em kg/ha
1949	40 000
1950	60 000
1953	45 000
1954	45 000
1957	55 000

Têm sido aplicados anualmente adubos de azoto, fósforo e potássio em quantidades variáveis com a cultura.

Em Abril de 1959, quando se colheu a amostra para estudo, tinha sido já retirada a cultura de tomate realizada em substituição das do 4.º ano da rotação e o solo encontrava-se de pousio.

Uma vez que uma boa agregação resulta de um estado de floculação dos colóides do solo por um catião conveniente e da cimentação desses flóculos e dos elementos mais grosseiros por um agente cimentante que dê estabilidade aos agregados formados e que permita a sua reversibilidade, pareceu-nos que no caso presente deveriamos actuar fundamentalmente sobre a cimentação visto que, dados os valores atingidos pelo índice de Alten, a quase totalidade da argila encontra-se floculada.

No espaço de 10 anos o solo levou uma aplicação total de 8 t/ha de materiais calcários que atingiram o objectivo em vista — a boa floculação das argilas. Em igual período a aplicação total de estrume corresponde a uma média anual de 26,5 t/ha. Ainda que o solo esteja sujeito a uma exploração intensiva pareceu-nos que esta quantidade de estrume seria suficiente para a melhoria das suas condições físicas.

Se bem que não haja um estudo da evolução do solo ao longo deste período de 10 anos, as informações colhidas, pela prática do do seu amanho, revelam-nos terem melhorado apreciàvelmente as condições físicas com a correcção, fertilização e rotação seguidas. Dado porém o facto de, no estado presente, as condições físicas ainda serem muito más, pareceu-nos de tentar aplicar métodos que levassem a uma melhoria mais rápida do solo.

Pelos factos atrás apontados desistimos de tentar qualquer melhoria nas condições de floculação pois as consideramos quase óptimas e, assim, qualquer diferença obtida pouco se reflectia no conjunto.

No estudo laboratorial a que procedemos ensaiámos a correcção do solo com *Krilium 6*, *Aquarius*, *Hydronase* e *Anelídeos*.

O *Krilium 6*, um dos primeiros condicionadores aparecidos, é

indicado para a aluvião em estudo, que se aproxima dos solos pesados, pois, segundo LEENHEER (1958), parece excelente para os solos pesados mas ineficaz para os solos ligeiros, ao contrário do que sucede com o *Krilium 9*.

Os produtos *Aquarius* e *Hydronase* são indicados com a finalidade que procuramos e também para aumentarem a capacidade utilizável dos solos para a água (ANÓNIMOS, 1958 *a*, 1958 *b*).

Os *Anelídeos* utilizados pertencem a *Allolobophora caliginosa* SÁV. ou a *A. icterica* SÁV., espécies muito afins que vivem bem em solos de reacção alcalina e são agentes de boa agregação do solo (HEITOR, 1958).

3. *Montagem da experiência*

A terra para o estudo foi colhida na primeira camada de 30 cm. Depois de seca ao ar foi passada pelo crivo de 2,7 mm procurando-se não esmiuçar o solo além do diâmetro do crivo. A seguir foi bem homogeneizada tendo ficado com 2,12 % de humidade.

Em vasos de vidro preto (dois para cada modalidade) foi colocada a terra correspodente a 200 g de terra seca na estufa. A terra ficou com cerca de 3 cm de altura.

A seguir juntou-se água destilada de modo a que o solo ficasse com 40 % de humidade.

O *Krilium 6* e a *Hydronase*, que se apresentam em pó, foram aplicados dissolvidos na água destilada. O *Krilium 6* dissolve-se com dificuldade e a solução apresenta uma viscosidade elevada. A *Hydronase* dissolve-se muito fàcilmente.

O *Aquarius*, que se apresenta numa solução diluida, foi igualmente aplicado em solução na água que se juntou ao solo.

Em cada vaso, após se juntar a água ao solo, foram colocados dois *Anelídeos* com o peso total de 2,5 g.

As modalidades e as doses aplicadas foram, em resumo, as seguintes:

	No vaso (gramas)	Em percentagem de solo	kg/ha
Testemunha	—	—	—
Krilium 6	0,2	0,1	438
Aquarius	0,4	0,2	876
Hydronase	0,02	0,01	43,8
Anelídeos	2,5	1,25	5 476

Os vasos foram colocados num compartimento escuro e sem grandes variações de temperatura e sujeitos a três períodos de evaporação, os dois primeiros até a perda de um quarto de humidade do solo (de modo a evitar a saída das minhocas do solo) e o último até a condição de solo seco ao ar.

O período de actuação dos tratamentos foi de 45 dias. Passado este período foram de novo as amostras crivadas pela malha de 2,7 mm procurando evitar a destruição do solo além do necessário para passar na malha do crivo.

4. *Métodos de análise*

4.1. Análise mecânica

Seguimos o método usado no Departamento de Solos da E. A. N. (Balbino, 1953).

4.2. Água do solo

Para a determinação das percentagens a pF 2 e a pF 2,7 utilizámos a panela de pressão e, para a percentagem a pF 4,2, a membrana de pressão e seguimos as técnicas descritas por Richards (1954) e Antunes da Silva (1956).

4.3. Condutividade no extracto de saturação

Seguimos a técnica descrita por Antunes da Silva (1958).

4.4. Perda por evaporação

A perda por evaporação no solo dos vasos foi determinada por simples diferença de pesagem nos períodos de secagem.

4.5. Análise de agregados

4.5.1. *Estabilidade dos micro-agregados*

Seguimos o método descrito por Graçanin (1950). Utilizámos 10 g de solo crivado pela malha de 2 mm e, na determinação de S e S', fizemos a suspensão com vinte inversões da proveta e com quatro, respectivamente. As amostras foram colocadas em humedecimento na proveta 16 horas antes da análise.

Fizemos a determinação dos dois índices seguintes:

$$\text{Coeficiente de Alten} = \frac{D - S}{D} \times 100$$

$$\text{Razão de Middleton} = \frac{S'}{D'} \times 100$$

em que:

D — percentagem de argila dada pela análise mecânica
S — » » » » » » de agregados
D' — » » » e limo dados pela análise mecânica
S' — » » » » » » » » de agregados

4.5.2. *Estabilidade dos macro-agregados*

Seguimos a técnica descrita por GRAÇANIN (1950). Fizemos a análise de 4 agregados de 0,5 g para cada amostra.

4.6. Densidade aparente, porosidade, expansibilidade

Seguimos a técnica descrita por ANTUNES DA SILVA (1957).

O índice de expansibilidade foi calculado, segundo BOTELHO DA COSTA & BASTOS MACEDO (1955):

$$\text{I. E.} = \frac{\text{Exp.}}{\text{\% argila}} \times 100$$

4.7. Permeabilidade

Seguiu-se a técnica proposta por FIREMAN (1944) e descrita por BALBINO (1954). Na crivagem utilizámos o crivo com a malha de 2,7 mm e os ensaios não foram feitos com água destilada mas sim com água de condutividade igual a 0,335 milimhos/cm proveniente essencialmente de $Ca\,CO_3$, o que evita a desfloculação da argila. A condutividade da amostra original é de 0,426 milimhos/cm.

Fez-se o cálculo de permeabilidade inicial a partir da água drenada nas primeiras 6 horas do ensaio.

4.8. Tenacidade

As amostras de solo do ensaio da permeabilidade foram retiradas dos tubos de modo a constituirem cilindros. Estes cilindros secaram ao ar durante 8 dias e foram levados a peso constante por secagem em estufa a 50° C.

Por meio de um dispositivo adequado foi medida, numa balança, a força de tracção necessária para quebrar os cilindros e considerada por centímetro quadrado como o valor da tenacidade.

4.9. Determinações químicas

A determinação do carbono orgânico foi feita por combustão por via seca e a conversão em matéria orgânica pela equação:

$$\% \text{ M. O.} = 1{,}724 \times \% \text{ Carbono}$$

Na determinação do cloreto de sódio seguiu-se o método n.º 13 descrito no *Agricultural Handbook*, **60** (RICHARDS, 1954). As restantes determinações químicas foram executadas pelos métodos citados por CARVALHO CARDOSO (1958).

Todas as determinações utilizadas no contrôle do ensaio foram feitas em duplicado em cada repetição excepto para a estabilidade dos macro-agregados, em que se fizeram quatro determinações, e para a evaporação, em que foi sòmente feita uma determinação por vaso.

RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÃO

O contrôle do ensaio realizou-se por meio das médias das determinações de evaporação do solo nos vasos, coeficiente de Alten, razão de Middleton, estabilidade dos macro-agregados, permeabilidade e tenacidade. Fizeram-se, além disso, diversas observações ao longo da experiência, principalmente em relação com o comportamento do solo com os humedecimentos.

1. *Comportamento do solo nos vasos com os humedecimentos*

1.ª Observação dos vasos — Depois do primeiro humedecimento (14/5/59):

Testemunha — Os agregados foram quase totalmente destruídos pela adição da água.

Krilium 6 — Os agregados mantiveram-se; a água penetrou no solo melhor do que com a testemunha.

Aquarius — Aspecto intermédio entre o da testemunha e o do tratamento com *Krilium 6*.

Hydronase — Como o anterior.

Anelídeos — Aspecto idêntico ao da testemunha; os *Anelídeos* penetraram ràpidamente no solo.

2.ª Observação dos vasos — Antes de se fazer o segundo humedecimento (29/5/59):

Os aspectos observados nesta segunda fase são idênticos aos aspectos observados antes do terceiro humedecimento. O solo tinha evaporado cerca de 1/3 da humidade. As fotografias 1, 2, 3 e 4 (Estampa I) documentam os aspectos a seguir descritos.

Testemunha — Solo muito fendilhado na parte central, com a maior abertura de 4 mm no vaso n.º 2 (maior perda de água por evaporação do que no n.º 1).
Krilium 6 — Nenhum fendilhamento na parte central; ligeiro fendilhamento junto aos bordos.
Aquarius — Ligeiro fendilhamento na zona central e nos bordos.
Hydronase — Aspecto idêntico ao anterior.
Anelídeos — Falta de humidade provocando a saída das minhocas do solo; fendilhamento, nos bordos e na parte central, menor que o de *Aquarius*; muitos orifícios circundados de material dejectado pelos *Anelídeos*.

3.ª Observação dos vasos — Aspectos do solo após o segundo humedecimento (29/5/59);

Os aspectos são idênticos aos observados após o terceiro humedecimento feito em 8/6/59. Sòmente, como no terceiro humedecimento levamos o solo até 30 % de humidade, não se notou água em excesso.

Testemunha — As fendas desapareceram; sem aspectos de água em excesso.
Krilium 6 — As fendas não desapareceram; a água, que ocupa ràpidamente todo o solo, não é completamente absorvida.
Aquarius — Aspecto idêntico ao da testemunha.
Hydronase — A água ocupa ràpidamente todo o solo; desaparecimento das fendas. Fica em excesso como no caso do *Krilium 6*.
Anelídeos — A água ocupa ràpidamente todo o solo através dos canais abertos pelas minhocas. A água apresenta-se mais em excesso do que nos casos anteriores. As galerias não são destruidas.

O facto da água ter ficado em excesso nalguns tratamentos, principalmente com os *Anelídeos*, facilitou a evaporação pelo que

se verificou esta ser mais elevada no período de secagem a partir do segundo humedecimento precisamente para as amostras com minhocas, o que já não se verificou após o 3.º período de humedecimento por se ter levado o solo a 30 % de humidade em vez de 40 %, como nos dois primeiros humedecimentos, e assim não ficar à superfície em nenhuma das repetições.

Os vasos com minhocas apresentavam a superfície do solo brilhante devido à passagem intensa dos *Anelídeos* sobre ela; é provável que esse facto tornasse o solo um pouco mais impermeável ainda que, no conjunto, a permeabilidade tivesse aumentado pela abertura de numerosas galerias.

Após a terceira secagem, até o estado de seco ao ar, fez-se novamente a crivagem das diversas repetições pelo crivo de 2,7 mm, procurando evitar a destruição da agregação do solo.

Na crivagem observou-se o seguinte:

Testemunha — Aspecto compacto; grande dificuldade em separar a terra do vaso; grande dureza, partindo o solo com fractura vítrea.

Krilium 6 — Apresenta muitos agregados que não se desfizeram com os humedecimentos. Quando tentámos partir os torrões, os agregados separaram-se entre si com bastante facilidade; também os agregados são mais fáceis de desfazer por pressão dos dedos do que os que se encontram na testemunha.

Aquarius — A terra separa-se com mais facilidade dos vasos do que na testemunha e desfaz-se também fàcilmente; o último facto deve estar relacionado com a tenacidade inferior à da testemunha

Hydronase — Aspectos do caso anterior.

Anelídeos — Aproximadamente como a testemunha mas um pouco mais dura no material não dejectado.

2. *Evaporação nos vasos*

As pesagens feitas em cada vaso ao longo do 2.º e do 3.º período de secagem do solo apresentam principalmente o interesse dos valores totais pelo que os quadros seguintes não incluem os números parciais.

Evaporação no 2.º período de secagem

Tratamentos	Média da evaporação (g água/200 g solo)
Testemunha	22,83
Krilium 6	22,51
Aquarius	23,91
Hydronase	22,43
Anelídeos	33,30 **

Erro experimental (5 g. l.)		7,01 %
Valor de F para tratamentos		14,28 **
Valores tabelares de F (4 e 9 g. l.)	P 5 % (*)	3,63
	P 1 % (**)	6,42
D. m. s.	P 5 % (*)	± 4,50
	P 1 % (**)	± 7,06

O ensaio foi altamente significativo entre *Anelídeos* e os outros tratamentos. Como supomos que isto principalmente depende do facto de com o humedecimento a 40 % ter ficado alguma água à superfície, mais acentuadamente nos vasos com minhocas, e não nos parecesse haver para este tratamento condições diferenciais favoráveis à evaporação, o 3.º humedecimento foi feito a 30 %.

Evaporação no 3.º período de secagem

Tratamentos	Média da evaporação (g água/200 g solo)
Testemunha	57,75
Krilium 6	59,12
Aquarius	57,61
Hydronase	55,39
Anelídeos	58,59

Erro experimental (5 g. l.)		5,10 %
Valor de F para tratamento		1,82
Valores tabelares de F (4 e 9 g. l.)	P 5 % (*)	3,06
	P 1 % (**)	4,89
D. m. s.	P 5 % (*)	± 7,68
	P 1 % (**)	± 12,04

Ensaio não significativo, o que confirmou que, mesmo a existência de galerias nos vasos com minhocas não aumentava a evaporação. Ainda se poderia supor que, dada a maior duração da 3.ª secagem (20 dias, quando a 2.ª secagem durou só 6 dias),

houvesse uma tendência para a uniformização do teor de humidade final. Mas, por um lado, este teor ainda diverge de cerca de 20 g do estado seco ao ar e, por outro, analisando qualquer ponto das pesagens ao longo do 3.° período de secagem, a conclusão era a mesma — não havia diferença de evaporação desde que não houvesse água à superfície do solo.

3. *Estabilidade dos agregados*

3.1. Micro-agregação

Os valores do coeficiente de Alten caracterizam-se pelo erro experimental mais baixo de todas as determinações: 1,39 %.

Coeficiente de Alten

Tratamentos		$\frac{D-S}{D} \times 100$
Testemunha		93,05
Krilium 6		97,43 **
Aquarius		94,30
Hydronase		95,05 *
Anelídeos		94,40
Errro experimental (15 g. l.)		1,39 %
Valor de F para tratamento		6,01 **
Valores tabelares de F (4 e 15 g. l.)	P 5 % (*)	3,06
	P 1 % (**)	4,89
D. m. s.	P 5 % (*)	± 1,98
	P 1 % (**)	± 2,74

As diferenças são significativas entre a testemunha e a *Hydronase* e altamente significativas entre o *Krilium 6* e os restantes tratamentos. Contudo não nos devemos esquecer que, embora haja estas diferenças, todos os valores do coeficiente de Alten são muito estáveis e que, portanto, não deverão ter significado estrutural as diferenças encontradas. Além disso, seria de averiguar se o aumento de viscosidade provocado pelo *Krilium 6* é responsável por diferenças na queda das partículas com importância no resultado, que viria acentuar ainda mais a diferença para a testemunha.

Razão de Middleton

Tratamentos	$\frac{S'}{D'} \times 100$
Testemunha	37,30
Krilium 6.	4,20 **
Aquarius	35,25
Hydronase	37,55
Anelídeos	37,93

Erro experimental (15 g. l.)			6,94 %
Valor de F para tratamentos			193,7 **
Valores tabelares de F (4 e 15 g. l.)	P	5 % (*)	3,06
		1 % (**)	4,89
D. m. s.	P	5 % (*) ±	1,39
		1 % (**) ±	4,40

Só o *Krilium 6* apresenta diferenças altamente significativas em relação à testemunha e aos restantes tratamentos. A melhoria verificada na agregação das partículas de diâmetro inferior a 0,02 mm é principalmente devida às propriedades resultantes daquele condicionador, facto este mais acentuado na estabilidade dos macro-agregados.

3.2. Macro-agregação

Os resultados, médias de 4 determinações por vaso, foram os seguintes:

Tratamentos	Tempo para se defazerem os agregados	Classificação da estabilidade
Testemunha	45 s	Completamente instáveis
Krilium 6.	24 h	Estáveis
Aquarius	60 s	Completamente instáveis
Hydronase	61 s	Completamente instáveis
Anelídeos	87 s	Completamente instáveis

Após a determinação notou-se que o solo dos agregados dos tratamentos com *Aquarius* e com *Hydronase* tinha um aspecto de farinha, enquanto que o da testemunha ficava com aspecto mais destruido. No material dos vasos com *Anelídeos* notava-se primeiro a desagregação da massa e, a seguir, a desagregação do material dejectado pelas minhocas.

Não fizemos interpretação estatística dos resultados visto que, embora haja algumas diferenças no tempo entre tratamentos, essas diferenças não interessavam pois os solos ficavam colocados todos na mesma categoria de completamente instáveis, excepto o tratado com *Krilium 6* que teve uma estabilidade excepcional; ao fim de 24 horas ainda se mantinham os agregados, o que consideramos uma grande melhoria na agregação.

Seriam de tentar doses mais elevadas de *Aquarius* e de *Hydronase* e tempo mais longo de actuação das minhocas com e sem estrumação simultânea, para procurar conseguir modificações na estabilidade dos macro-agregados. Parece-nos que o *Flotal* e outros condicionadores mais económicos do que o *Krilium 6* também deviam ser incluidos em novos estudos sobre a correcção deste solo.

4. *Permeabilidade*

Apresentamos os resultados dos valores do coeficiente de permeabilidade *k* obtidos nas primeiras 6 horas de passagem da água (permeabilidade inicial) e determinados no 2.º e no 4.º dia do ensaio.

Podem-se considerar os valores do 2.º dia como constantes. Eles pouco diferem dos obtidos no 4.º dia mas estes são mais uniformes nas repetições do que aqueles.

Coeficiente de permeabilidade
(*k* em cm/hora)

Tratamentos	Inicial	2.º dia	4.º dia
Testemunha	0,54	0,41	0,39
Krilium 6	9,26	8,22 **	7,62
Aquarius	1,03	0,74 **	0,70
Hydronase	1,37	0,74 **	0,72
Anelídeos	1,71	0,76 **	0,79

Interpretação estatística dos valores do segundo dia:

Erro experimental (15 g. l.)			40,3 %
Valor de F para tratamentos			47,757 **
Valores tabelares de F (4 e 15 g. l.)	P	5 % (*)	3,06
		1 % (**)	4,89
D. m. s.	P	5 % (*)	± 0,22 cm/h
		1 % (**)	± 0,31 cm/h

Para a interpretação estatística dos dados de permeabilidade foi feita primeiramente a transformação logarítmica dos dados a fim de diminuir a influência de uma das repetições obtidas com o *Krilium 6* cujo valor elevado provinha da técnica do ensaio.

O erro experimental de 40,3 % é admissível na determinação da permeabilidade (FIREMAN, 1944) tanto mais que não dispomos de um sistema de compactação mecânica do solo nos tubos do permeâmetro e esta é obtida por pancadas manuais e sempre portanto sujeita ao factor pessoal.

A testemunha difere significativamente, ao nível de 1 %, dos tratamentos. Igualmente o *Krilium 6* difere significativamente, ao nível de 1 %, dos restantes tratamentos.

Estas conclusões são extensíveis aos outros tempos em que as observações foram registadas sendo o erro experimental mais elevado na permeabilidade inicial e menor para os valores do 4.º dia do que para os valores do 2.º dia.

Considerando a classificação do «Soil Survey Manual» (ANÓNIMO, 1951) para a permeabilidade constante, esta é, na testemunha, *lenta* (*k* de 0,13 a 0,50) enquanto que a obtida com os tratamentos já é *moderadamente lenta* (0,50 a 2,00) excepto com o *Krilium 6* em que é *moderadamente rápida* (6,35 a 12,70).

5. *Tenacidade*

Os resultados obtidos com o ensaio de tenacidade são os seguintes:

Tratamentos	Tenacidade em k/cm²
Testemunha	0,338
Krilium 6	0,022 **
Aquarius	0,217
Hydronase	0,313
Anelídeos	0,235

Erro experimental (15 g. l.)		33,8 %
Valor de F para tratamentos		10,10 **
Valores tabelares de F (4 e 15 g. l.)	P 5 % (*)	3,06
	P 1 % (**)	4,89
D. m. s.	P 5 % (*)	± 0,120
	P 1 % (**)	± 0,166

O ensaio apresenta-se com um erro experimental muito elevado (33,8 %). Mesmo assim, o Krilium 6 apresenta diferenças altamente significativas em relação com a testemunha e os restantes tratamentos.

Dado que as diferenças da testemunha para [illegible] e [illegible] são quase significativas, o aumento do número de repetições e a melhoria na técnica do ensaio conduziria provavelmente a resultados significativos com estes tratamentos.

CONCLUSÕES

Não devemos perder de vista que se trata de um ensaio preliminar, realizado no laboratório, com um período curto de actuação dos tratamentos e, em relação com a tenacidade, com poucas repetições. Servir-nos-á, assim, de base para ensaio em maior escala e, se possível, realizado no campo. Contudo, mesmo nas condições de limitação em que o ensaio foi realizado obtivemos as seguintes conclusões que nos parecem interessantes e que ajudam bastante a esclarecer o problema:

1) O solo apresenta boas condições de floculação e más condições de cimentação nos seus agregados.
2) A instabilidade dos agregados à água é responsável pela baixa permeabilidade e pela elevada tenacidade do solo.
3) O solo não apresenta problemas de salinidade e mostra uma textura desequilibrada com predominância da fracção limo + areia fina igual a 71,50 %.
4) Os correctivos aplicados, OCa e estrume, ao longo de 10 anos, em doses totais respectivamente de 5 000 kg/ha e 145 000 kg/ha, ainda que nos parecessem suficientes, só o foram para o primeiro pois o solo não só se encontra em óptimas condições de floculação como também apresenta um pH igual a 7,8, uma baixa condutividade e baixo teor em sódio de troca.
5) Parece-nos aconselhável não continuar com as calagens como correctivo, mas continuar com as estrumações e aplicar um agente cimentante talvez do tipo gel de ferro, que dê agregados estáveis à água, reversíveis, e que seja económico e de acção duradoura, a fim de apressar e

manter o melhoramento das condições físicas do solo em condições compatíveis com a agricultura.

6) O *Krilium 6* foi o tratamento absolutamente eficaz em todos os ensaios que fizemos pelo que seria de tentar a aplicação em doses de 0,1 ‰ e verificar a duração dos seus efeitos.

7) Os tratamentos com *Aquarius, Hydronase* e *Anelídeos* tiveram uma acção pouco melhoradora das propriedades físicas do solo. Será necessário, para os dois primeiros, ensaiá-los em doses mais elevadas e, para o último, em conjunto com a aplicação de estrume e empregando outras espécies.

8) Seria conveniente ensaiar outros condicionadores, dado o preço elevado da aplicação do *Krilium 6*, principalmente do tipo de gel férrico tais como o *Flotal*.

SUMÁRIO

Um solo de Alvalade (Sado) de formação aluvial apresenta más condições físicas devido aos agregados serem instáveis à agua, ainda que as condições de floculação sejam óptimas.

Foi tentada no laboratório, em ensaio em vasos, a sua correcção com os seguintes tratamentos: *Krilium 6* a 1 ‰, *Aquarius* a 2 ‰, *Hydronase* a 0,1 ‰ e *Anelídeos* (duas minhocas com o peso de 2,5 g em 200 g de solo).

Ao fim de 45 dias a acção do *Krilium 6* em relação à testemunha foi altamente significativa nos valores do coeficiente de Alten (mudou de 93,05 % para 97,43 %, da razão de Middleton (de 37,3 % para 4,2 %), da estabilidade dos macro-agregados (de completamente instáveis para estáveis), da permeabilidade constante (de 0,41 cm/h para 8,22 cm/h) e da tenacidade (de 0,338 kg/cm² para 0,022 kg/cm²). Este condicionador reduziu o fendilhamento mas não teve influência nas perdas por evaporação.

Os restantes tratamentos tiveram uma pequena acção na melhoria das condições físicas do solo.

SUMMARY

PHYSICAL BEHAVIOR AND IMPROVEMENT OF AN ALLUVIAL SOIL FROM ALVALADE (SOUTHERN PORTUGAL)

PRELIMINARY STUDY

An alluvial soil from Alvalade (Sado) with [illegible] % of fine sand plus silt shows poor physical properties due to low water stability of its aggregates, although its flocculation conditions are rather good.

The improvement of its physical properties was tried by addition of 1 ‰ of *Krilium 6*, 2 ‰ of *[illegible]*, 0,1 ‰ of *Hydronase*, and 2 earthworms weighing 2.5 g. to 200 g of soil. The experiments were made in pots.

After 45 days it was found that all treatments but *Krilium 6* had improved very little the physical properties of the soil.

Krilium 6 was highly significant in relation to the check pots. This was shown by the Alten coefficient (97.43 % for *Krilium 6* and 93.05 % for the check), Middleton ratio (4.2 % and 37.5 %, respectively), water stability of macroaggregates (stable with *Krilium 6* and completely unstable without *Krilium 6*), and constant permeability (8.22 cm/h and 1.41 cm/h, respectively). The cracking was less when *Krilium 6* was added. No differences in evaporation were found between the pots treated and untreated.

BIBLIOGRAFIA

BALBINO, L. RODRIGUES

1953 Análise mecânica dos solos. Método usado no Departamento de Solos da Estação Agronómica Nacional. *Agros*. **36**: 139-148.

1954 Correcção dum solo halomórfico. Estudo laboratorial comparativo entre o *Krilium*, *Flotal* e Gesso. *Agron. Lusit.* **16**: 231-251.

BLACK, C. A.

1957 *Soil-plant relationships*. Iowa State College. John Wiley & Sons, Inc. New York.

CARDOSO, J. V. J. CARVALHO

1958 Os solos de S. Tomé e Príncipe. Seu estudo preliminar. [illegible] **5** (17): 9-44.

COSTA, J. V. BOTELHO DA & MACEDO, J. M. BASTOS

1955 Índice de expansibilidade de alguns solos de Angola. *Garcia de Orta* **3**: 33-37.

FIREMAN, M.

1944 Permeability measurements on disturbed soil samples. *Soil Sci.* **58**: 337-353.

GRAÇANIN, M.

1950 To the problem of evolution of soil structure. *4 th Int. Congr. Soil Sci.* **1**: 40-43.

HEITOR, FERNANDA P. C.

1958 *Os Lumbricidae de Portugal (Subsídios para a sua identificação e relações das diferentes espécies com a natureza do solo).* Rel. Final do Curso de Eng. Agr. I. S. A. Lisboa (Mimeografado).

LEENHEER, L.

1958 Le problème de la structure du sol et ses aspects pratiques. *Bull. Inst. agron. Gembloux,* **26**: 13-65.

RICHARDS, L. A., *edit.*

1954 Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. *U. S. Dept. Agric. Handbook,* **60**.

SILVA, A. ANTUNES DA

1956 Determinação indirecta do coeficiente de emurchecimento. *Agros,* **39**: 217-229.

1957 Caracterização física do solo. Modificação do método de Keen-Rackowski. *XXIII Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências,* **5**: 479-487.

1958 Água do solo disponível para as plantas. Um método de determinação da capacidade utilizável em solos com sais solúveis. *Agros.* **41**: 153-165.

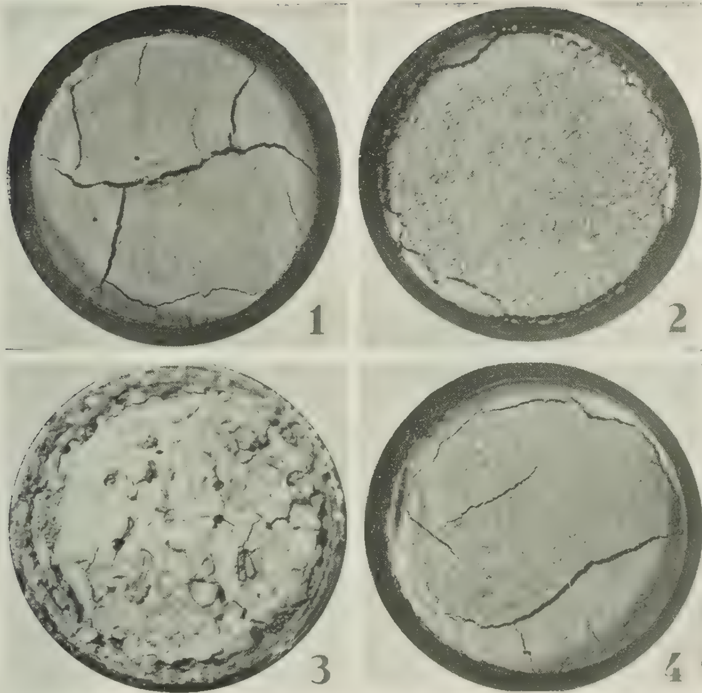
ANÓNIMOS

1951 Soil survey manual. *U. S. Dept. Agric. Handbook,* **18**.

1958*a* *Hydronase — a new surface acting agent in agriculture* — Axon Chemical & Fertilizer Corp., New York.

1958*b* *Aquarius — the water bearer.* Aquarius (Agriculture) Ltd., England.

ESTAMPA I



Aspectos de quatro modalidades antes do terceiro humedecimento:

1 — *Testemunha*; 2 — *Krilium 6*; 3 — *Anelídeos*; 4 — *Hydronase.*

A AMOSTRAGEM POR GRUPOS COM SUB-AMOSTRAGEM ESTRATIFICADA NA DETERMINAÇÃO DA ÁREA DE CULTURA ARVENSE DUM CONCELHO (1)

POR *MARIA LUÍSA DE BARROS E SOUSA*
(Estação Agronómica Nacional)

A AMOSTRAGEM NO SECTOR AGRÍCOLA

NA nossa vida de todos os dias embora desconhecendo, dum modo geral, os princípios da amostragem, estamos constantemente a proceder a ela, a dar-lhe realização. Quando, por exemplo, ao pretendermos avaliar das qualidades de uma casta de feijões retiramos de uma saca dessas sementes uma mão cheia delas não fazemos mais do que, dum modo grosseiro, é certo, colher uma amostra daquela população.

Muitos casos semelhantes poderiam apresentar-se que mostrariam quão utilizada é a amostragem na vida quotidiana, embora por vezes esta seja realizada duma forma bastante rudimentar e imprecisa.

Mas a amostragem não tem interesse por si própria mas tão sòmente pela representatividade da população que assegura, e assim poderemos dizer com OLIVEIRA (1948): « embora a tiragem de amostras seja primordialmente uma questão de bom-senso procurando-se realizar, no devido grau, a necessária representatividade, reconhece-se agora a vantagem, para economia de dinheiro e tempo, do emprego de outras técnicas, algo diferentes, da de amostragem casual, que frequentemente é de difícil aplicação ».

Com o desenvolvimento destas novas técnicas de selecção das amostras o campo de acção da amostragem tem-se alargado consideràvelmente. Assim no sector agrícola, que é aquele que principalmente nos diz respeito, a amostragem presta valioso auxílio na

(1) Extraído do Relatório Final do curso de engenheiro agrónomo (BARROS E SOUSA, 1957).

elaboração das estatísticas agrícolas, aliás muito vastas, na experimentação e na previsão de colheitas (Barros e Sousa, 1955).

No presente trabalho abordamos o problema da «amostragem», um tema de tão flagrante actualidade que qualquer estudo por mais despretencioso que seja terá sempre interesse e tanto maior quanto é certo que em Portugal a utilização das técnicas de amostragem não tem merecido aquela atenção que à mesma tem sido dedicada noutros países.

MATERIAL

A fim de recolher elementos que nos pudessem servir para a aplicação no nosso país dos métodos de amostragem ao caso de uma população relacionada com as actividades agrícolas dirigimo-nos ao Instituto Nacional de Estatística. Porém, segundo o estabelecido na sua lei orgânica, o referido organismo não pôde facultar a consulta de elementos estatísticos de carácter individual.

Em vista da dificuldade apontada resolvemos procurar noutros organismos oficiais, tais como o Plano de Fomento Agrário, a Junta de Colonização Interna, etc., os elementos que nos pudessem servir para o estudo que pretendiamos realizar.

Um desses organismos, o Instituto Geográfico e Cadastral, possuia dados que nos podiam servir e que foram obsequiosamente postos à nossa disposição. Tais dados, aliás apenas relativos às freguesias do concelho de Portel, distrito de Évora, diziam respeito à área total por propriedade rural ([1]), discriminando ainda as áreas de alguns tipos de cultura existentes nessas mesmas propriedades.

Decidimo-nos pelo estudo, por amostragem, da área de cultura arvense no concelho de Portel, tomando como lista-base ou «frame» (Sukhatme, 1953) uma lista de todas as propriedades agrícolas do concelho com as respectivas áreas totais.

Um tal cadastro de propriedades rurais pode ser utilizado como base para a estratificação da população. A partir dele, e com fundamento nas divisões administrativas podemos proceder a uma amostragem *por grupos* de propriedades, seguida ou não de

---

([1]) Entende-se aqui por «propriedade rural» o conjunto de prédios rústicos ou partes de prédios rústicos que um proprietário possui numa só freguesia.

sub-amostragem das propriedades de cada grupo. Por outro lado, as áreas das diferentes propriedades podem, por sua vez, servir de variável auxiliar quando utilizemos nos cálculos um dos métodos de informação suplementar.

Na Tabela I apresentamos, a título de exemplo, dos dados que nos foram fornecidos, os respeitantes à freguesia de Alqueva, depois de ordenados por ordem crescente de variável auxiliar. Nas colunas 2 e 3 incluem-se dois elementos de identificação da propriedade, dentro da freguesia e dentro do estrato. Seleccionada uma dessas unidades — a propriedade rural — o primeiro daqueles elementos permite-nos obter o valor da área de « cultura arvense » na propriedade ; pelo segundo elemento fica-se sabendo a « área total » dessa propriedade.

MÉTODO

Método de « amostragem por grupos com sub-amostragem estratificada »

Sendo difícil obter a lista de todos os elementos que constituem uma população recorre-se, com frequência, ao método de amostragem por grupos.

Numa amostragem deste tipo um dos pontos básicos é a definição dos grupos, ìntimamente ligada à grandeza destes. O grupo óptimo será o que dê uma estimativa da característica em estudo com o menor erro de amostragem para uma dada proporção da população amostrada ou, mais geralmente, para um dado custo.

Deming (1950, pág. 136) diz-nos, a propósito, que uma das principais vantagens da amostragem por grupos com sub-amostragem é que a preparação das listas para a etape seguinte só é necessária para as unidades que tenham sido na realidade seleccionadas na 1.ª etape.

A estratificação destas 2.as unidades de amostragem é justificada pelo facto de, por haver uma grande variabilidade dos dados dentro de cada grupo, a divisão em estratos permitir obter grupos menos heterogéneos.

De posse de todos os dados referentes às propriedades rurais do concelho de Portel, e em virtude da maneira como se achavam compilados esses dados, considerámos aquela unidade administrativa, que corresponde à população sob o ponto de vista estatístico,

TABELA I

Dados respeitantes às propriedades rurais da freguesia de Alqueva, concelho de Portel, distribuídos por 7 estratos

Área da propriedade (ha)	Elemento de identificação (na freguesia)	Elemento de identificação (no estrato)	Área da cultura arvense (ha)	Área da propriedade (ha)	Elemento de identificação (na freguesia)	Elemento de identificação (no estrato)	Área da cultura arvense (ha)
			1.º Estrato				
0,0100	112	1	0,0100	0,2500	108	46	0,2500
0,0100	144	2		0,2750	78	47	0,2750
0,0100	160	3	0,0100	0,2750	128	48	
0,0150	92	4		0,3000	43	49	0,3000
0,0150	162	5	0,0150	0,3250	134	50	0,0500
0,0200	182	6		0,3250	180	51	
0,0250	18	7	0,0250	0,3500	111	52	
0,0250	149	8		0,3500	208	53	0,3500
0,0325	39	9		0,3625	103	54	0,3250
0,0375	71	10	0,0375	0,3750	20	55	0,3750
0,0500	2	11		0,3750	70	56	
0,0500	26	12	0,0500	0,3750	124	57	
0,0500	44	13		0,4000	21	58	
0,0500	140	14	0,0500	0,4000	105	59	0,4000
0,0600	169	15		0,4000	132	60	0,4000
0,0750	41	16	0,0000	0,4000	186	61	0,4000
0,0750	90	17		0,4250	118	62	0,4250
0,0750	161	18		0,4250	141	63	
0,0750	163	19		0,4500	33	64	0,4500
0,0750	170	20	0,0750	0,4750	13	65	
0,1000	86	21	0,1000	0,4750	79	66	0,4750
0,1000	106	22		0,4750	107	67	
0,1000	188	23		0,4750	139	68	
0,1150	58	24	0,1150	0,5175	197	69	
0,1250	87	25	0,1250	0,5500	69	70	
0,1250	93	26		0,6000	12	71	
0,1250	190	27		0,6000	96	72	
0,1300	7	28	0,0300	0,6000	189	73	
0,1500	1	29	0,1500	0,6000	206	74	
0,1500	35	30	0,1500	0,6250	209	75	
0,1500	116	31	0,1500	0,6500	130	76	
0,1500	125	32		0,6500	158	77	
0,1750	123	33	0,1750	0,6750	36	78	0,0000
0,1750	165	34	0,1750	0,6750	76	79	
0,1750	192	35	0,1750	0,7000	52	80	
0,1875	167	36		0,7500	15	81	0,7500
0,2000	14	37		0,8250	51	82	
0,2000	49	38		0,8250	100	83	
0,2000	133	39		0,8250	151	84	
0,2250	31	40	0,2250	0,8500	122	85	
0,2250	75	41	0,2250	0,8775	95	86	
0,2250	135	42		0,8875	80	87	
0,2250	168	43	0,2250	0,8925	115	88	
0,2400	34	44		0,9250	157	89	0,0000
0,2500	27	45					

TABELA I *(Cont.)*

2.º Estrato

1,0000	16	1	0,0000	2,6000	117	34	2,5500
1,0250	185	2		2,6500	110	35	
1,1000	89	3		2,7500	121	36	
1,1000	152	4		2,8000	46	37	
1,1500	62	5	1,1500	3,0250	204	38	
1,1500	83	6	1,1500	3,1000	88	39	
1,2500	199	7		3,1250	47	40	2,5750
1,2750	177	8	1,2750	3,1400	179	41	1,7200
1,2950	176	9	1,2950	3,6250	60	42	
1,3350	81	10	1,3350	4,1750	50	43	3,5750
1,3500	24	11		4,3000	143	44	
1,4000	155	12	1,4000	4,5650	205	45	
1,4250	59	13		4,5750	3	46	4,3750
1,4500	57	14	0,6750	4,8750	187	47	
1,5500	146	15		5,0750	210	48	
1,5500	159	16		5,1500	109	49	5,1500
1,5625	17	17	1,1825	5,1950	85	50	4,7450
1,5750	10	18		5.4225	173	51	1,8250
1,5750	64	19		6,0500	207	52	
1,6000	91	20		6,2500	94	53	
1,6250	55	21	1,6250	6,4000	5	54	6,4000
1,6500	166	22		7,0125	191	55	
1,7250	48	23		7,0250	82	56	7,0250
1,8100	129	24	1,8100	7,4750	23	57	
1,9500	99	25	1,9467	7,9500	178	58	7,8474
2,0000	6	26	2,0000	8,0250	102	59	
2,0250	183	27		8,8875	73	60	
2,1325	22	28		9,1250	77	61	
2,1400	200	29	0,4750	9,5550	104	62	2,7000
2,2000	196	30	2,2000	9,5750	37	63	
2,3500	131	31		9,6500	4	64	
2,3750	9	32		9,9000	126	65	
2,4750	153	33					

3.º Estrato

10,0250	113	1		12,2750	156	10	
10,8750	195	2		13,3000	28	11	12,0750
10,9000	193	3	10,7257	14,4000	29	12	
11,0250	65	4	0,3250	14,4750	74	13	12,6750
11,0250	101	5		14,5500	98	14	12,0720
11,6500	68	6	11,2250	15,5300	164	15	
11,6750	119	7	11,6750	17,9500	184	16	
11,8500	30	8		18,1500	114	17	
12,1750	175	9		18,3250	147	18	17,8000

TABELA I *(Cont.)*

4.º Estrato

20,8000	154	1		28,9000	171	12	24,9080
20,8500	172	2	20,2159	32,3500	25	13	30,6461
22,4750	137	3		32,4725	19	14	29,8725
22,5150	148	4	22,0719	35,3750	194	15	35,2991
22,6700	181	5		39,2250	84	16	38,1002
23,8000	174	6		39,5100	61	17	
23,8500	63	7		39,9000	145	18	38,2625
23,9250	40	8	19,9216	40,0000	56	19	
24,3250	54	9		53,7000	142	20	
26,1125	136	10		81,7750	198	21	
28,7950	97	11					

5.º Estrato

134,0250	150	1		147,7825	45	4	25,4522
138,6250	8	2	68,8318	191,9950	53	5	
138,8500	127	3		249,7250	120	6	104,6017

6.º Estrato

269,0250	67	1		282,5750	42	4	105,6750
271,8500	138	2	51,4770	310,6625	32	5	
273,2500	66	3	13,3750	474,6500	11	6	

7.º Estrato

526,9250	201	1		675,2250	72	4	361,2881
548,4450	202	2	407,4363	735,3500	203	5	
593,9000	38	3	433,6868	762,3000	211	6	

dividida em freguesias *(1.as unidades de amostragem)*. Do conjunto de todas as freguesias tirou-se por amostragem casual uma amostra de freguesias, constituindo-se, assim, a denominada *1.a amostra.*

Cada freguesia da 1.ª amostra, que é afinal um agrupamento ou « grupo » de propriedades, foi seguidamente considerada como uma população a ser amostrada. Para esta segunda tiragem de amostras utilizámos o método da estratificação seleccionando, deste modo, de cada freguesia incluída na 1.ª amostra, um certo número de propriedades *(2.as unidades de amostragem)* distribuídas pelos diferentes estratos.

Procedendo assim, fizemos, afinal, uma *amostragem por grupos com sub-amostragem estratificada.* Pela adopção deste método torna-se mais fácil a obtenção dos dados de estudo, uma vez que seleccionando um certo número de freguesias, numa primeira amostragem, só necessitamos daí em diante dos cadastros referentes às freguesias incluídas nessa amostra.

Na amostragem por grupos com sub-amostragem, temos pois de proceder à selecção de duas amostras, sendo uma respeitante às freguesias e a outra às propriedades dentro das freguesias seleccionadas.

Deste modo, torna-se necessário (conforme se verá) determinar a *grandeza* daquelas duas amostras, para que se obedeça ao princípio de obter «a máxima precisão com o mínimo custo».

Notação

Na notação das fórmulas matemáticas seguiremos COCHRAN (1953), simbolizando por x a variável «área de cultura arvense» e por z a que representa a informação suplementar «área total da propriedade».

Pelo facto de seguirmos aquela notação virá, no que se refere a médias e totais:

— os valores da população serão representados por letras maiúsculas;

— o símbolo $\hat{}$ sobreposto às letras maiúsculas significará que se trata de estimativas dos valores da população;

— os valores referentes à amostra serão representados pelas letras minúsculas;

— os símbolos correspondentes a médias levarão superiormente uma «barra».

Reportando-nos ao nosso caso, teremos então que no concelho de Portel existem $N = 8$ freguesias.

A freguesia de ordem F ($F = 1, 2, \ldots, N$) constituída por P_F propriedades rurais, pode ser estratificada em H estratos (H 1, 2, ... K). Assim, o estrato H terá P_{FH} propriedades e, então,

$$\sum_{H=1}^{K} P_{FH} = P_F .$$

À propriedade rural de ordem I ($I = 1, 2, \ldots, P_{FH}$) está associada a «área total», z_{FHI}, e a «área de cultura arvense», x_{FHI}.

Assim, de acordo com a notação proposta,

$$X_{FH} \quad \text{e} \quad \overline{X}_{FH}$$

representarão respectivamente o total da «área de cultura arvense» no estrato H, da freguesia F, e a área média correspondente.

As estimativas destes valores serão, respectivamente

$$\hat{X}_{FH} \quad \text{e} \quad \hat{\overline{X}}_{FH}.$$

Como seleccionamos uma 1.ª amostra de n freguesias teremos que a 2.ª amostra a seleccionar da freguesia f ($f = 1, 2, \ldots, n$) será constituída por p_f propriedades distribuídas pelos h estratos ($h = 1, 2, \ldots, k$), de forma a que o estrato h contribua para essa 2.ª amostra com p_{fh} propriedades.

Note-se que o número de ordem f ($f = 1, 2, \ldots, n$) da freguesia seleccionada na amostra pode não corresponder necessàriamente ao número de ordem F ($F = 1, 2, \ldots, N$) daquela freguesia na respectiva população.

Outro tanto se diria para o caso dos estratos em que cada uma das freguesias se divide, todavia no caso presente de «amostragem por grupos com sub-amostragem estratificada», com $h = 1, 2, \ldots, k$ e $H = 1, 2, \ldots K$, e em que $K = k$, a ordem será a mesma; isto é, *todos* os estratos de cada uma das freguesias seleccionadas figuram na amostra e pela mesma ordem em que são consideradas na população (pelo que usaremos sempre $h = 1, 2, \ldots, k$).

Selecção da 1.ª amostra (amostra casual de «grupos» de propriedades)

A determinação da grandeza da 1.ª amostra a ser seleccionada (amostra das freguesias) acarreta a necessidade de conhecermos não só o custo da respectiva amostragem, como também implica a determinação da grandeza dos «grupos» em que a população deve ser dividida.

No nosso caso a população estava naturalmente dividida em grupos (freguesias) cujas grandezas não seriam certamente as óptimas, entendendo-se por grupos de grandeza óptima aqueles que

para uma dada parcela da população fornecem, pelo menor custo e com a maior precisão, uma estimativa da característica em estudo.

Como não possuíamos elementos que nos fornecessem informações sobre o custo da amostragem, não pudemos proceder à determinação da grandeza óptima desta 1.ª amostra; considerámo-la, por nos parecer razoável, no caso presente, como sendo constituída por 50 % do número de freguesias da população.

No caso concreto do concelho de Portel, constituído pelas seguintes freguesias: Alqueva, Amieira, Monte Trigo, Oriola, Portel, Santana, S. Bartolomeu do Outeiro e Vera Cruz de Marmelar, seleccionámos, por amostragem casual simples 50 % das freguesias, recorrendo para isso às tabelas de números casuais de Tippett (1927).

Assim, sendo $N = 8$, virá $n = 0{,}5\ N = 4$.

As freguesias seleccionadas, com o respectivo número total de propriedades (P_F), foram:

Alqueva	211	propriedades
Monte Trigo	147	»
Portel	302	»
S. Bartolomeu do Outeiro	101	»

Selecção da sub-amostra (amostra estratificada das propriedades de cada freguesia seleccionada)

Utilizando a estratificação na sub-amostragem das freguesias seleccionadas precisamos de atender a várias fases de trabalho que, segundo a classificação de Hansen *et al.* (1953, pág. 184) são as seguintes:

- Delimitação dos estratos;
- Determinação da grandeza da amostra e sua distribuição pelos diferentes estratos;
- Selecção da amostra;
- Cálculo das estimativas.

Não é na teoria estatística que nos poderemos basear para determinar o melhor conjunto de estratos, visto que aquela não nos fornece processos nem nos facilita fórmulas para essa determinação mas, tão sòmente, alguns princípios que nos podem servir de guia.

Como delimitar os estratos?

Para conseguir esta finalidade devemos lançar mão da característica em estudo ou, não sendo isto possível, escolher a característica mais altamente correlacionada com ela.

Ao estabelecermos os limites dos estratos devemos ainda servir-nos de todas as informações que possam ajudar-nos na classificação dos elementos da população, tais como: conhecimento prévio da população, intuição pessoal, dados anteriores, etc.

O custo da estratificação deve tomar-se também em linha de conta, devendo conduzir a um sistema de estratificação simples.

Há na prática um limite para o número de estratos em que pode dividir-se a população, em virtude de pretender-se que, pelo menos, uma unidade de cada estrato possa ser incluída na amostra; por outro lado, a delimitação dos estratos deve encerrar sempre um número inteiro de unidades.

Assim, no nosso caso, para delimitar os estratos dentro de cada freguesia (grupo de propriedades) tivemos de lançar mão da característica «área da propriedade», z, procurando tornar mínima a variância de cada estrato.

Fizemos diversas divisões em estratos, determinando para cada uma delas e para um dado coeficiente de variação ($C. V. = 5\,\%$) a grandeza da amostra a seleccionar (p_f) e a sua distribuição pelos estratos. No caso da freguesia de Alqueva, por exemplo, optámos pela divisão da população nos seguintes estratos:

— <	0,9999
1,0000 —	9,9999
10,0000 —	19,9999
20,0000 —	99,9999
100,0000 —	249,9999
250,0000 —	499,9999
— >	500,0000

A *grandeza* da amostra a tirar de cada freguesia seleccionada calculou-se fixando um determinado coeficiente de variação.

Uma vez determinada a grandeza da amostra, distribuímo-la de forma a que a razão entre a grandeza da amostra a ser tirada de cada estrato e a da amostra a seleccionar na freguesia seja igual à razão existente entre o número de unidades do estrato e o número de unidades da freguesia:

$$\frac{p_{fh}}{p_f} = \frac{P_{Fh}}{P_F}. \qquad (1)$$

Procedemos afinal à *distribuição proporcional* da amostra pelos estratos.

Não pudemos recorrer à *distribuição óptima* ([1]) não só por não possuirmos elementos que nos permitissem calcular o custo da medição de cada unidade da amostra — ou pelo menos concluir se esse custo seria ou não constante por unidade seleccionada — como também porque não tínhamos possibilidade de obter a variância dentro dos estratos. A variância de que nos servimos não foi a da característica em estudo, mas sim a de uma variável auxiliar, associada com a área total da propriedade.

Para se obter uma estimativa da média derivada de uma amostra estratificada tendo em conta a distribuição proporcional da amostra e uma dada variância V_o, a grandeza da amostra requerida é dada por

$$p_f = \frac{\frac{1}{P_f} \sum_{h=1}^{k} P_{fh} \, S^2_{fh}}{V_o + \frac{1}{P^2_f} \sum_{h=1}^{k} P_{fh} \, S^2_{fh}}. \qquad (2)$$

Como não conhecemos o valor de S^2_{fh} e como a estratificação é feita com base numa característica suplementar z (correspondente à «área da propriedade»), aquela fórmula ficará

$$p_f = \frac{\frac{1}{P_f} \sum_{h=1}^{k} P_{fh} \, S^2_{zfh}}{V_{zo} + \frac{1}{P^2_f} \sum_{h=1}^{k} P_{fh} \, S^2_{zfh}} \qquad (3)$$

onde S^2_{zfh} é a variância para o estrato h da freguesia f, em relação à característica z.

Tomando um coeficiente de variação de 5 %, temos que:

$$C.V. = 0{,}05 = \frac{\sqrt{V_{zo}}}{\bar{Z}}. \qquad (4)$$

([1]) Também conhecida por *distribuição de Neyman* e que é baseada no «princípio da distribuição óptima», pelo qual a grandeza da amostra deve ser distribuída pelos estratos de forma a poder obter-se uma estimativa, para uma precisão desejada, com um custo mínimo ou, alternativamente, para um dado custo a menor variância.

Para Alqueva, por exemplo, como o total de z é $Z = 7\,913{,}7375$ ha (*Cf.* Tabela I) obtém-se pela fórmula anterior

$$V_{zo} = 3{,}5168.$$

Determinámos em seguida para cada estrato a respectiva variância em relação à característica z. Com esses valores elaborámos a Tabela II que nos facilita o cálculo de p_f, dado que nessa Tabela incluímos uma coluna que é o resultado do produto de P_{fh} por S^2_{zfh}. A soma destes produtos para os diferentes estratos é-nos necessária para a determinação não só do numerador como do denominador da fracção que fornece p_f.

TABELA II

Estratificação das propriedades rúrais (Alqueva)

Limites dos estratos (ha)	Número de propriedades no estrato h P_{fh}	Variância do estrato (variável z) S^2_{zfh}	$P_{fh}\ S^2_{zfh}$
— < 0,9999	89	0,0686	6,1054
1,0000 — 9,9999	65	7,1675	465,8875
10,0000 — 19,9999	18	7,1758	129,1644
20,0000 — 99,9999	21	200,9450	4 219,8450
100,0000 — 249,9999	6	2 104,4472	12 626,6832
250,0000 — 499,9999	6	6 453,2739	38 719,6434
— > 500,0000	6	9 716,4860	58 298,9160
Total	211	—	114 466,2449

A partir dos valores incluídos na Tabela II calculou-se $p_f = 89$; no caso presente obteve-se ainda, arredondando por excesso:

$$p_{f1} = 38$$
$$p_{f2} = 27$$
$$p_{f3} = 8$$
$$p_{f4} = 9$$
$$p_{f5} = 3$$
$$p_{f6} = 3$$
$$p_{f7} = 3$$

Substituindo f por 1, 2, 3 e 4, respectivamente para as freguesias de Alqueva, Monte Trigo, Portel e S. Bartolomeu do

Outeiro, faz-se por fim a distribuição das amostras pelos diferentes estratos de cada uma dessas freguesias.

O restante formulário relativo às estimativas de interesse para o fim em vista é dado no capítulo seguinte.

RESULTADOS

Seleccionado um certo número de freguesias do concelho e, dentro destas, algumas propriedades rurais, comecemos por ver como, a partir da área de cultura arvense das propriedades seleccionadas, passamos à área de cultura arvense do estrato e, deste, para a freguesia. Das freguesias obtém-se seguidamente uma estimativa da área que no concelho está entregue à cultura arvense.

Para cada propriedade seleccionada teríamos de proceder à medição da respectiva área de cultura arvense. Esta tarefa porém foi-nos desnecessária, porquanto obtivemos através do Instituto Geográfico e Cadastral essas medições nas propriedades seleccionadas (Tabela I).

Da propriedade ao estrato

As p_{fh} propriedades seleccionadas têm uma « área de cultura arvense » total de x_{fh}, obtida a partir da « área de cultura arvense » x_{fhi} de cada uma das p_{fh} propriedades da amostra:

$$x_{fh} = \sum_{i=1}^{p_{fh}} x_{fhi} . \qquad (5)$$

Como cada estrato é, por sua vez, considerado como uma população e a amostragem fora casual simples, a média $\bar{x}_{fh}$ fornece uma estimativa justa (unbiassed) da média do estrato $\bar{X}_{fh}$.

A estimativa do respectivo total será:

$$\hat{X}_{fh} = P_{fh} \hat{\bar{X}}_{fh} = P_{fh} \bar{x}_{fh}. \qquad (6)$$

A variabilidade entre as estimativas da média $\hat{\bar{X}}_{fh}$ ($= \bar{x}_{fh}$) em relação ao respectivo valor verdadeiro, $\bar{X}_{fh}$, mede-se pela variância de $\hat{\bar{X}}_{fh}$ em torno de $\bar{X}_{fh}$ segundo a fórmula:

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

A partir dos valores [illegible] para o estrato [illegible] estimativas para a freguesia.

Para a freguesia [illegible] a área média de cultura [illegible] tem como estimativa [illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

TABELA III

Valores das médias, dos totais e das estimativas das variâncias dessas médias, respeitantes à área de cultura arvense, por estrato, das freguesias seleccionadas no concelho de Portel

Estrato	p_{fh}	P_{fh}	x_{fh}	$\bar{x}_{fh}=\hat{\bar{X}}_{fh}$	$\hat{X}_{fh}$	s^2_{fh}	$v(\hat{X}_{fh})$
Alqueva, $f = 1$							
< 0,9999	38	89	7,5175	0,1978	17,6042	0,0305	0,0004
1,0000 — 9,9999	27	65	70,0066	2,5928	168,5320	4,1678	0,0902
10,0000 — 19,9999	8	18	88,5727	11,0716	199,2888	2,3692	0,1645
20,0000 — 99,9999	9	21	259,2978	28,8109	605,0289	54,4695	3,4584
100,0000 — 249,9999	3	6	198,8857	66,2952	397,7714	1 570,9865	261,8311
250,0000 — 499,9999	3	6	170,5270	56,8423	341,0540	2 151,4126	358,5688
— > 500,0000	3	6	1 202,4112	400,8037	2 404,8224	1 343,3861	223,8977
Monte Trigo, $f = 2$							
< 2,4999	50	96	34,9630	0,6993	67,1328	0,5106	0,0049
2,5000 — 9,9999	11	21	38,0775	3,5250	74,0250	4,4026	0,1906
10,0000 — 249,9999	7	14	331,7257	47,3894	663,4514	1 403,7764	100,2697
250,0000 — 999,9999	6	12	588,6210	98,1035	1 177,2420	1 403,6805	116,9734
— > 1 000,0000	2	4	916,9970	458,4985	1 833,9940	6 120,8246	1 530,2061
Portel, $f = 3$							
— < 9,9999	92	232	95,1225	1,0339	239,8648	1,7489	0,0115
10,0000 — 19,9999	7	17	31,3968	4,4853	76,2501	3,8093	0,3201
20,0000 — 99,9999	6	15	105,6432	17,6072	264,1080	17,1449	1,7145
100,0000 — 249,9999	8	20	424,0783	53,0098	1 060,1960	373,5470	28,0160
250,0000 — 499,9999	4	9	427,7761	106,9440	962,4960	4 760,5983	661,1942
— > 500,0000	4	9	582,1553	145,5388	1 309,8492	5 134,8252	713,1702
S. Bartolomeu do Outeiro, $f = 4$							
— < 9,9999	59	89	37,4703	0,6351	56,5239	1,0213	0,0058
10,0000 — 249,9999	4	6	229,7658	57,4414	344,6484	541,8622	45,1552
— > 250,0000	4	6	256,9930	64,2482	385,4992	382,2988	31,8582

Na freguesia f incluída na amostra e uma vez que $\hat{X}_f = P_f \hat{\bar{X}}_f$, a variância $v(\hat{X}_f)$ será dada por

$$v(\hat{X}_f) = P_f^2 \; v(\hat{\bar{X}}_f) = \sum_{h=1}^{k} P_{fh}^2 \left(1 - \frac{p_{fh}}{P_{fh}}\right) \frac{s^2_{fh}}{p_{fh}}. \qquad (13)$$

Na Tabela IV apresentamos os diversos valores estimados, para cada uma das 4 freguesias que constituem a 1.ª amostra.

TABELA IV

Valores estimados dos totais, das médias e das respectivas variâncias das áreas de cultura arvense relativas às freguesias seleccionadas

Freguesias	p_f	P_f	$\hat{X}_f$	$\hat{\bar{X}}$	$v(\hat{X}_f)$	$v(\hat{\bar{X}}_f)$
Alqueva	91	211	4 134,1017	19,5929	32 356,6373	0,7268
Monte Trigo	76	147	3 815,8452	25,9581	61 109,5414	2,8280
Portel	121	302	3 912,7641	12,9562	123 627,1638	1,3555
S. Bart. do Outeiro	67	101	786,6718	7,7888	2 818,4242	0,2763

Da freguesia ao concelho

Das estimativas para a freguesia deduzem-se os valores para o concelho.

Tendo a freguesia F ($F = 1, 2, \ldots, N$) um total de P_f propriedades, o valor de P

$$\bar{P} = \frac{1}{N} \sum_{F=1}^{N} P_F \tag{14}$$

será o número de propriedades por freguesia, no referido concelho.

A «área média de cultura arvense», por propriedade, no concelho é dada por

$$\bar{X} = \frac{1}{N} \sum_{F=1}^{N} \frac{1}{P_F} \sum_{h=1}^{k} \sum_{I=1}^{P_{Fh}} x_{FhI} = \frac{1}{N} \sum_{F=1}^{N} \bar{X}_F \tag{15}$$

da qual obtemos uma estimativa justa através da «área de cultura arvense» nas n freguesias que constituem a 1.ª amostra:

$$x = \frac{1}{nP} \sum_{f=1}^{n} \hat{X}_f$$

sendo, ainda

$$\bar{x} = \hat{\bar{X}}. \tag{16}$$

Para a nossa população teremos, então, que X se pode calcular a partir da área que em cada freguesia é entregue à cultura arvense, X_F.

Não possuímos os X_F mas sim estimativas calculadas através da amostragem estratificada, para as freguesias incluídas na 1.ª amostra.

A área que no concelho se destina à cultura arvense terá como estimativa

$$\hat{X} = \hat{X} \sum_{F=1}^{N} P_F = N \bar{P} \,\hat{\bar{X}}. \qquad (17)$$

A variância de $\hat{X}$ é dada pela seguinte expressão:

$$V(\hat{\bar{X}}) = \left(\frac{1}{n} - \frac{1}{N}\right) S_e^2 + \frac{1}{nN} \sum_{F=1}^{N} \frac{P_F^2}{\bar{P}^2} \left(\frac{1}{p_F} - \frac{1}{P_F}\right) S_F^2 \qquad (18)$$

em que a primeira componente depende da variância entre «grupos» (freguesias). A segunda componente é igual a

$$\frac{1}{nN} \sum_{F=1}^{N} \frac{P_F^2}{\bar{P}^2} \left(\frac{1}{p_F} - \frac{1}{P_F}\right) S_F^2 \qquad (19)$$

onde

$$S_F^2 = \frac{\sum_{I=1}^{P_F} (x_{FhI} - X_F)^2}{P_F - 1} \qquad (20)$$

que é, afinal, o quadrado médio para a freguesia F.

Então aquela 2.ª componente ficará com a expressão

$$\frac{1}{nN} \sum_{F=1}^{N} \frac{P_F^2}{\bar{P}^2} V(X_F).$$

Como não possuímos $V(X_F)$ nem, aliás, X_F mas sim as suas estimativas, a fórmula (18) resultará, depois das substituições apropriadas

$$v(\hat{X}) = \left(\frac{1}{n} - \frac{1}{N}\right) s_e^2 + \frac{1}{nN} \sum_{f=1}^{n} \frac{P_f^2}{\bar{P}^2} v(\hat{X}_f). \qquad (21)$$

Sabendo que nas oito freguesias existe um total de 1 213 propriedades será:

$$\bar{P} = \frac{1}{8} \sum_{F=1}^{8} P_F = \frac{1\ 213}{8} = 151{,}625.$$

No caso em questão, como estimativa da média teremos

$$\bar{x} = \bar{\hat{X}} = 20{,}8564.$$

Finalmente, para «área total de cultura arvense» no concelho tem-se

$$\hat{X} = 20{,}8564 \times 1\ 213 = 25\ 298{,}8132.$$

Quanto a S_e^2 obtemos uma sua estimativa através da amostra, dada por

$$s_e^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{f=1}^{n} \left(\frac{P_f}{\bar{P}} \bar{\hat{X}}_f - \bar{\hat{X}}\right)^2 \qquad (22)$$

A Tabela IV fornece-nos os valores de P_f, $\hat{X}_f$ e, portanto, de $P_f \hat{X}_f$. Assim,

$$s_e^2 = \frac{1}{4-1} \times 329{,}6372 = 109{,}8791$$

pelo que na fórmula (21) a primeira componente da variância terá o valor 13,7349.

Para o cálculo da estimativa da segunda componente da variância, novamente da Tabela IV tiramos P_f, $v(\hat{X}_f)$ e, portanto, $v(\hat{X}_f) = P_f^2\, v(\hat{X}_f)$. No caso em questão o valor calculado foi de 0,2989.

Por soma das duas componentes, teremos $v(\hat{X}) = 14{,}0338$; daí

$$e.\ p. = 3{,}7462.$$

O coeficiente de variação, isto é, o erro padrão expresso em percentagem da média é

$$\frac{3{,}7462 \times 100}{20{,}8564} = 18{,}0\ \%.$$

CONCLUSÕES

Quando nos dispusémos a estudar por amostragem a área de cultura arvense do concelho de Portel, sobre que já tinha incidido um inquérito exaustivo, demo-nos conta de que os dados de que poderíamos dispor eram não só restritos como até constituiam uma população pouco homogénea.

Apresentando-se os dados naturalmente agrupados — referimo-nos à distribuição das propriedades pelas oito freguesias daquele concelho — resolvemos utilizar o método de amostragem por grupos. Com a intenção de diminuir o efeito da heterogeneidade do universo estatístico, estratificaram-se em primeiro lugar os dados dentro dos grupos procedendo-se seguidamente a uma sub-amostragem.

Este método é largamente utilizado quando se torna difícil obter a lista-base de todas as unidades da população ou quando estas se encontram naturalmente agrupadas.

Com o emprego desta «amostragem por grupos com sub-amostragem estratificada» calculámos para o referido concelho de Portel a área total que estava sujeita à cultura arvense. A estimativa obtida foi de 25 298,8132 ha.

Se compararmos esta estimativa com a área que na realidade existe no concelho (num total de 23 618,6092 ha, segundo a avaliação do Instituto Geográfico e Cadastral) verificamos que a discrepância entre aqueles valores corresponde a 7,1 % da área real.

A estimativa da área média, por propriedade, da cultura arvense é de 20,8564 ha, com um erro padrão, expresso em função da média, de 18 %. Esta estimativa tem pois uma fraca precisão por o concelho de Portel ser pouco homogéneo, conforme se referiu, quanto à distribuição da cultura arvense.

A variância que aquela estimativa da média apresenta (14,0338) é na sua maior parte (13,7349) devida à variação entre os «grupos», ou seja à variação da área de cultura arvense entre as freguesias, que é cerca de 46 vezes a componente (0,2989) devida à variação dentro dos «grupos».

SUMMARY

We have tried to study by mean of a sampling method a population related to an agricultural activity. For the Portel county a complete list of farms with their sizes grouped in smaller administrative divisions — parishes — was at our disposal.

We decided by making a sampling study of the arable area in that county, using as *frame* the list mentioned above and taking the size of farm as auxiliary variable.

The design that seemed more convenient was the « cluster sampling with stratified sub-sampling ».

A sample of 50 % of the total parishes' number was drawn from the listing through simple random sampling. Afterwards, a sample of farms was taken from within the sample of parishes, which we stratified by size of farm. This second one is a stratified sample allocated proportionally to the stratum size.

For the selected second units we measured the area of arable land. Finally, as an estimated area of arable land in the Portel county we obtained 25,298.8132 ha.

When this estimate is checked against the actual arable area in the county (23,618.6092 ha) it can be recognized that the discrepancy amounts to 7.1 % of the actual area.

The estimated mean arable area per farm is 20.8564 ha. This estimate, however, is not very accurate, since its standard error expressed in percentage of the mean is 18 %. A higher accuracy was not to be expected, as the population under study — the Portel county — is very scarce and shows a low homogeneity as far the distribution of the arable land is concerned.

The great variance of the estimated mean is mostly due to the variation among « groups », that is, to the variation of the arable area among the parishes, which is almost 46 times as large as the variation within the « groups ».

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COCHRAN, W. G.
1953 *Sampling techniques.* JOHN WILEY & SONS, New York.
DEMING, W. E.
1950 *Some theory of sampling.* JOHN WILEY & SONS, New York.
HANSEN, M. H., HURWITZ, W. N. & MADOW, W. G.
1953 *Sample survey methods and theory.* 1 & 2. JOHN WILEY & SONS, New York.

OLIVEIRA, A. J. DE
1948 Estudos de estatística agronómica. IV — Importância da amostragem na experimentação agrícola. *Agron. Lusit.* **10**: 201-229.

SOUSA, MARIA LUÍSA DE BARROS E
1955 *Relatório àcerca de um Centro de Demonstração dos modernos métodos de amostragem* (Dactilogr.).
1957 *A cultura arvense no concelho de Portel. Determinação da respectiva área por um método de amostragem.* Rel. final do Curso Eng.º Agrón., Inst. Sup. de Agronomia, Lisboa (Mimeogr.).

SUKHATME, P. V.
1953 *Sampling theory of surveys with applications.* Iowa State College. Ames, Iowa.

TIPPETT, L. H. C.
1927 *Random sampling numbers.* Cambridge University Press.

PUBLICAÇÃO DA
DIRECÇÃO GERAL DOS SERVIÇOS AGRÍCOLAS
Serviço de Informação Agrícola

ÍNDICE DO FASCÍCULO

PARA A CORRESPONDÊNCIA E PERMUTA REFERENTES A ESTA REVISTA DIRIGIR-SE A:
POUR LA CORRESPONDANCE ET L'ÉCHANGE CONCERNANT CETTE REVUE S'ADRESSER À:
LETTERS AND EXCHANGE CONCERNING THIS PERIODICAL TO BE ADDRESSED TO:

BIBLIOTECA DA ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL
SÀCAVÉM
PORTUGAL